

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ECOLE DOCTORALE N° 598

Sciences de la Mer et du littoral

Spécialité : « *Ecologie marine* »

Par

Mathilde GIGOT

« Caractérisation de l'impact acoustique des travaux de battage de pieu et de forage associés à la construction d'éoliennes offshore sur les stades larvaires des bivalves marins *Pecten maximus* et *Venus verrucosa* »

Thèse présentée et soutenue à Plouzané le 07/10/2022

UMR6539 LEMAR

Rapporteurs avant soutenance :

Olivier ADAM
Vincent MEDOC

Professeur à l'Université Paris-Sorbonne
Maître de conférence à l'Université Jean Monnet –Saint-Etienne (UJM)

Composition du Jury :

Olivier ADAM (rapporteur)
Claire HELLIO
Vincent MEDOC (rapporteur)
Yves-Marie PAULET

Professeur à l'Université Paris-Sorbonne
Professeure à l'Université de Bretagne Occidentale (UBO)
Professeur à l'Université Jean Monnet – Saint-Etienne (UJM)
Professeur à l'Université de Bretagne Occidentale (UBO)

Directeur de thèse :
Laurent CHAUVAUD
Co-directeur de thèse :
Julien BONNEL
Co-encadrant de thèse :
Frédéric OLIVIER
Invité :
Réjean TREMBLAY

Directeur de Recherche au Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR)
Associate Scientist au Woods Hole Oceanographic Institution (WHOI), Etats-Unis
Professeur du Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN)
Professeur à l'Université du Québec à Rimouski (UQAR), Canada

*« J'suis sous l'averse,
Les vents sont violents, les vagues frappent.
Ancré dans l'Sahara, tu la quitteras pas sans état d'âme.
Tristesse enracinée, sirènes dans la cité,
D'richesses en amitiés, j'y ai tant navigué.
J'suis sous l'averse. »*

Poochka - Brest Romance



Remerciements

Je souhaite d'abord remercier Olivier Adam, Claire Hellio, Vincent Medoc et Yves-Marie Paulet, membres de mon jury qui ont accepté de prendre de leur temps pour lire ce manuscrit et juger les travaux menés dans le cadre de ma thèse.

Je remercie naturellement mes directeurs et encadrants de thèse qui m'ont aiguillée sur le marathon de la thèse et m'ont offert un cadre de travail stimulant et enrichissant. Un grand merci Frédéric Olivier pour les nombreuses relectures d'articles et pour ton enthousiasme à toute épreuve qui a équilibré mon pessimisme et ma tendance à douter de tous mes résultats. Un grand merci à Julien Bonnel pour m'avoir patiemment appris les bases de l'acoustique (ce n'était vraiment pas gagné), pour m'avoir si bien encadrée même depuis l'autre côté de l'Atlantique et pour avoir toujours fait des efforts pour comprendre nos « trucs de biologistes ». Merci Laurent Chauvaud de ta confiance.

Merci Réjean Tremblay pour les nombreuses relectures que tu as faites sur les articles malgré ton emploi du temps (sur)chargé et pour m'avoir fait profiter de ton expertise sur l'élevage larvaire. Je te remercie de m'avoir accueillie au sein de ton laboratoire, me permettant ainsi de découvrir le Québec.

Je remercie également Tarik Meziane pour m'avoir accueillie dans le laboratoire BOREA et Najet Thiney pour m'avoir tout appris de l'extraction lipidique.

Un grand merci aux membres de mon comité de suivi Franck Lagarde et Xavier de Montaudouin pour leur temps et leur disponibilité.

Merci Youenn Jézéquel d'être venu m'aider en manip acoustique au Tinduff, pour l'unique « plongée » de ma thèse.

Je remercie Katell Geffroy pour nous avoir permis de travailler dans de bonnes conditions au PNBI (tard quand il le fallait) et de ton aide pour la réservation de l'amphi de soutenance.

Un grand merci à Luana, ma coloc de bureau, copine de thé et de funk, pour toutes ces discussions et aussi pour m'avoir mis (sans le vouloir) un peu la pression en soutenant ta thèse cinq mois avant moi. Merci Pierre pour les beaux dessins au tableau... Je vous souhaite à tous les deux de vous épanouir pleinement dans cette nouvelle vie après la thèse ! Merci Jean-Alix pour m'avoir mise hors de danger d'hypoglycémie pendant ma

phase de rédaction et merci pour les tests comparatifs réalisés très scientifiquement à l'aveugle (Figolu ou biscuit figue St-Michel ?).

Merci à Guigou, mon super coloc de Rimouski. Tu as toujours su prendre ta guitare pour me remonter le moral quand j'avais le mal du pays. Merci d'avoir participé à ce karaoké qui restera dans les annales (ahou tchatchatcha). Cela me manque de ne plus t'entendre « chanter » au Baro. Merci à toi et à Lauriane d'être partis avec moi dans cette aventure folle du tour de Gaspésie !

Un full grand merci aux Québécois. Delphine pour les aventures sauvages du week-end, Gauthier pour ta joie de vivre et ces courses de transpalette, et tous les autres pour la chaleur, les découvertes et les mythiques jeudis du Baro.

Je remercie les deux stagiaires que j'ai encadrées, Joséphine n°1 pour m'avoir aidée durant mes expérimentations de 2020 et surtout pour m'avoir amenée au travail tous les jours quand j'avais un genou en moins, et Joséphine n°2 pour m'avoir appris, sur le tas, l'encadrement et la pédagogie.

Un chaleureux merci à toute l'équipe de l'Écloserie du Tinduff, Alain, Allan, Flo, Ju, Pyc, Will et Ifig. Merci pour votre aide précieuse lors des manip à rallonge, merci de m'avoir accueillie pendant ces deux ans de manip et de comptage. Mon arrivée en Bretagne aurait été bien moins conviviale sans vous. Merci de m'avoir appris la recette ancestrale de coquilles Saint-Jacques au barbecue et merci de m'avoir patiemment enseigné le palet breton, même si j'ai toujours été assez mauvaise. Je mesure bien toute la chance que j'ai eu d'atterrir chez vous !

Je remercie maintenant les artistes. Merci à Liz Hacoët pour tes magnifiques dessins qui ornent les chapitres et en-têtes de ma thèse. J'espère te re-voir, en altitude cette fois. Merci Poochka de m'avoir laissé utiliser les vers de « Brest Romance » en épigraphe et en avant-première !

Au commencement de cette thèse, j'ai quitté Paris pour venir poser mes bagages à Brest. Je suis tombée amoureuse de la Bretagne et des bretons. Alors merci la thèse pour m'avoir apporté ce changement de vie intense.

Merci à mes copains parisiens qui sont venus (et même revenus) me voir : Jeff (the first), Ulysse, Louis, Faustine, Pierre, Ludo, Marceau, Bastien, Paul et Perrine.

Un grand merci à tous mes copains brestois pour avoir partagé autant d'amour et de folles soirées, après-midi, matinées. Sans vous ce deuxième « confinement » à Brest même n'aurait pas eu la même saveur. Merci Christo le cœur de meute, ma belle merguez de Cha, Aline et nos « café-plantes », Léa, Clem-cave-à-teuf, David aux mille vies, le grand Guillaume, Abdou (« ça va bien se passer »), Nelss, Cynthia, Renault, Maude, Jilou, Léna, Gaby, Aurass, Ronan, Simon et Ben. Et merci les Fauvettes pour ces belles soirées dans notre salon à tous. Merci au rap gang brestois, Poochka et AD. Une douce pensée aussi pour les Nantais, Aurel (sans Emiliouch), Sylvain et Haelwenn.

Pour finir mes remerciements vont à ma famille, qui m'a soutenue pendant ces trois ans. Merci à mes parents, beaux-parents et grands-parents d'avoir bravé les intempéries (et préjugés) pour venir découvrir le Finistère. A mes parents de m'avoir aidée en manip pour m'éviter une nocturne au Tinduff. A ma mère et ma grand-mère pour ces appels réguliers sur le retour du labo, pour avoir pris de mes nouvelles et de celles de « mes coquilles ». A ma merveilleuse maman pour avoir relu les parties françaises de mon manuscrit de thèse.

Et enfin je tiens à remercier tout particulièrement mon Paul parfait, sans qui je serais très probablement devenue folle. Merci de m'avoir suivie à Brest sans hésitation et de m'avoir aidée, soutenue et rassurée au quotidien. C'est une nouvelle aventure qui commence désormais pour nous et je suis comblée de la partager avec toi.

Merci enfin à toutes les coquilles Saint-Jacques et praires qui ont participé à cette thèse et sans qui rien n'aurait été possible.

Réalisations scientifiques

Articles en révision

Olivier, F., Gigot, M., Mathias, D., Jezequel, Y., Meziane, T., L'Her, C., Chauvaud, L., Bonnel, J., 202X. Assessing the impacts of anthropogenic sounds on early stages of benthic invertebrates: the 'Larvosonic system'. *Limnology & Oceanography Methods*.

Gigot, M., Olivier, F., Cervello, G., Tremblay, R., Mathias, D., Meziane, T., Chauvaud, L., Bonnel, J., 202X. Pile driving and drilling underwater sounds impact the metamorphosis dynamics of *Pecten maximus* (L., 1758) larvae. *Marine Pollution Bulletin*.

Gigot, M., Tremblay, R., Bonnel, J., Mathias, D., Meziane, T., Chauvaud, L., Olivier, F., 202X. Maternal effects of pile driving sound on *Pecten maximus* (L., 1758) larvae first stages development. *Oecologia*.

Article en préparation

Gigot, M., Tremblay, R., Bonnel, J., Chauvaud, L., Olivier, F. Physiological state of *Venus verrucosa* (L., 1758) larvae modulate the response to pile driving and drilling underwater sounds. *Frontiers in Marine Science (Special issue)*.

Communications orales

Réunion annuelle du RAQ (Ressources Aquacoles Québec)

Novembre 2020 – visioconférence – français

« Impacts acoustiques des chantiers offshore sur le recrutement de la coquille Saint-Jacques » - Présentation des résultats du chapitre 2.

Conférence Physiomar

Septembre 2021 – visioconférence – anglais

« Impacts of pile driving and drilling noises on the Great Scallop *Pecten maximus* » - Présentation des résultats du chapitre 3.

Réunion de laboratoire ISMER (Institut des Sciences de la mer à Rimouski)

Novembre 2021 – Rimouski, Québec – français

« Impacts of pile driving and drilling noises on the Great Scallop *Pecten maximus* » - Présentation des résultats du chapitre 3.

Réunion annuelle du RAQ (Ressources Aquacoles Québec)

Novembre 2021 – Québec, Québec – français

« Impact acoustique des chantiers offshore sur l'écologie larvaire de *Pecten maximus* et *Venus verrucosa* » - Speed talk (3min).

Workshop SERENADE - Séminaire national sur le bruit sous-marin

Juin 2022 – Brest, France – français

« Forage et Battage de pieu à St-Brieuc : impact acoustique des chantiers offshore sur les larves de coquilles St-Jacques » - Illustration des potentiels effets acoustiques des chantiers éoliens par les résultats du chapitre 4.

Séjours scientifiques à l'extérieur du laboratoire

Laboratoire de Biologie des Organismes et Écosystèmes Aquatiques (BOREA)

UMR 8067 MNHN, CNRS SU, IRD 207, UCN, UA, 61 Rue Buffon CP 53,
75005 Paris, France

2019 - cinq mois, encadrée par Tarik Meziane - Extractions et analyses lipidiques, résultats présentés dans les chapitres 2 et 3.

Institut des Sciences de la Mer, Université du Québec à Rimouski (ISMER/UQAR)

310 Allée des Ursulines, Rimouski, Québec G5L 2Z9 Canada

2021 – deux mois, encadrée par Réjean Tremblay - Extractions lipidiques et séparations neutres/polaires, résultats présentés dans le chapitre 4.

Financements

Cette bourse de thèse a été financée par le CNRS. Les expériences et le matériel nécessaire à leur réalisation ont été financés par le projet IMPAIC ('IMPacts Acoustiques sur les Invertébrés de la baie de Saint-Brieuc') sponsorisé par Ailes Marines (Iberdrola).

Mon séjour au Québec a pu être réalisé grâce à une bourse de la région Bretagne et au financement du Laboratoire de Recherche International BeBEST2 (UBO, UQAR, CNRS, et MNHN).



Table des matières

Introduction	- 15 -
I. Acoustique marine	- 17 -
I.1. Bases de l'acoustique	- 17 -
I.1.1. Caractériser un son	- 17 -
I.1.2. Les unités de mesure acoustique	- 20 -
I.2. Le paysage acoustique marin.....	- 21 -
I.2.1. Géophonie	- 23 -
I.2.2. Biophonie	- 25 -
I.2.3. Anthropophonie.....	- 27 -
II. Le son et les organismes marins.....	- 31 -
II.1. Le sens de l'audition chez les animaux.....	- 31 -
II.1.1. Les organes de réception chez les vertébrés.....	- 31 -
II.1.2. Les organes de réception chez les invertébrés.....	- 32 -
II.1.3. Méthodes de détermination de l'audition	- 34 -
II.2. Impact des sons anthropiques sur les invertébrés	- 36 -
II.2.1. Lésions physiques	- 37 -
II.2.2. Modifications comportementales	- 38 -
II.2.3. Effets physiologiques	- 40 -
II.2.4. Phénomène d'habituation	- 41 -
II.2.5. Effets sur les stades larvaires	- 42 -
III. Contexte et objectifs de la thèse	- 43 -
III.1. Les bruits associés à l'implantation d'éoliennes	- 43 -
III.1.1. Eolien offshore : remède à l'urgence climatique ?.....	- 43 -
III.1.2. Nuisances associées aux éoliennes dans le milieu marin.....	- 46 -
III.2. Choix des modèles biologiques	- 47 -
III.2.1. Pourquoi étudier les invertébrés ?.....	- 47 -
III.2.2. Pourquoi étudier les larves ?	- 48 -
III.3. Choix de la méthodologie	- 50 -
III.3.1. Expériences en milieu contrôlé et contraintes associées	- 50 -
III.3.2. Démarche scientifique	- 52 -
Chapitre 1: Assessing the impacts of anthropogenic sounds on early stages of benthic invertebrates: the 'Larvosonic' system.....	- 57 -
I. Introduction	- 63 -
II. Materials and methods.....	- 66 -
II.1. Larvosonic system.....	- 66 -
II.2. Sound field of the Larvosonic	- 69 -
II.2.1. Sound recordings and analyses	- 69 -
II.2.2. Resonance calculation	- 70 -
II.2.3. Sound field calibration	- 71 -
II.2.4. Experimental sounds	- 72 -
II.3. Experiments in Larvosonic biological trials with post-larvae of <i>Pecten maximus</i>	- 74 -
II.3.1. Post-larval rearing	- 74 -
II.3.2. Post-larval exposure experiment	- 75 -
II.3.3. Post-larval counting and length measurements	- 76 -
II.3.4. Fatty Acid analyses	- 76 -
II.3.5. Statistical analyses	- 77 -

III. Results	- 78 -
III.1. Larvosonic Acoustics	- 78 -
III.1.1. SPL variability	- 78 -
III.1.2. Reverberation and spectral analysis	- 79 -
III.1.3. Kinetic Energy (KE) versus Potential Energy (PE)	- 82 -
III.2. Impact of pile-driving and drilling sounds on <i>P. maximus</i> post-larvae	- 83 -
III.2.1. Pile driving (P) and drilling (D) acoustic treatments and ambient noise	- 83 -
III.2.2. Survival and growth rates	- 84 -
III.2.3. Total content and relative contributions of fatty acids in larvae	- 85 -
IV. Discussion	- 85 -
IV.1. Previous experimental work to assess noise impact on larval stages of invertebrates -	86 -
IV.2. Larvosonic mesocosms: less reverberation and homogeneous sound diffusion	- 87 -
IV.3. Anthropogenic impacts on <i>Pecten maximus</i> recruits	- 88 -
IV.4. The Larvosonic system, an efficient tool that can be improved	- 89 -
Chapitre 2: Pile driving and drilling sounds impact the metamorphosis dynamics of <i>Pecten maximus</i> (L., 1758) larvae	- 93 -
I. Introduction	- 98 -
II. Methods	- 101 -
II.1. Larval rearing	- 101 -
II.2. Sound emissions	- 101 -
II.3. Growth, survival and metamorphosis success	- 104 -
II.4. Clearance rates	- 105 -
II.5. Fatty acids analyses	- 106 -
II.6. Statistical analyses	- 107 -
III. Results	- 108 -
III.1. Mortality rate	- 108 -
III.2. Metamorphosis rate	- 108 -
III.3. Growth rate	- 109 -
III.4. Clearance rate	- 111 -
III.5. Fatty acids	- 112 -
IV. Discussion	- 114 -
IV.1. TST influence on settlement and metamorphosis of <i>Pecten maximus</i>	- 114 -
IV.2. Direct impact of anthropogenic noise on larval mortality	- 115 -
IV.3. Impact on settlement and metamorphosis	- 115 -
V. Conclusion	- 119 -
Chapitre 3: Maternal effects of pile driving sound on <i>Pecten maximus</i> (L., 1758) larvae first stages development	- 123 -
I. Introduction	- 129 -
II. Material and methods	- 131 -
II.1. Parental sound exposure during gonad maturation	- 131 -
II.2. Reproduction success and spawning induction	- 132 -
II.3. Larval sound exposure	- 134 -
II.4. Larval mortality and growth	- 136 -
II.5. Fatty acid analyses	- 137 -
II.6. Datas analyses	- 137 -
III. Results	- 138 -
III.1. Reproductive success	- 138 -
III.2. Larval performance	- 139 -
III.2.1. Larval performance non-exposed to sound treatments.....	- 139 -
III.2.2. Larval sound exposure	- 139 -
III.2.3. Fatty acid analysis	- 142 -

IV. Discussion	- 143 -
IV.1. Direct impact of anthropogenic sound on adult maturation	- 143 -
IV.2. Impact on larval quality	- 145 -
IV.3. Impact on larval sensitivity to noise	- 147 -
IV.4. Ecological meaning of and maternal sound impact	- 148 -
Chapitre 4: Physiological state of <i>Venus verrucosa</i> (L., 1758) larvae modulate the response to pile driving and drilling underwater sounds	- 153 -
I. Introduction	- 159 -
II. Materiel and Method	- 161 -
II.1. Thermal modulation of physiological state	- 161 -
II.2. Sound x temperature interaction on veliger larvae	- 164 -
II.3. Sound x temperature interaction on pediveliger larvae	- 166 -
III. Results	- 168 -
III.1. Thermal modulation of physiological state	- 168 -
III.2. Sound x temperature interaction on veliger larvae	- 170 -
III.3. Sound x temperature interaction on pediveliger larvae	- 172 -
IV. Discussion	- 174 -
IV.1. Impact of temperature rearing on larval physiology	- 175 -
IV.2. Sound reduces settlement, mortality and thermic compensatory mechanisms	- 178 -
Discussion générale	- 183 -
I. Synthèse des résultats de la thèse	- 186 -
I.1. Le Larvosonic, un défi technique à relever	- 186 -
I.2. Impacts des sons anthropiques sur les larves de bivalves	- 186 -
I.3. Impact de l'état physiologique sur la réponse au son	- 191 -
I.4. Définir un stade critique de la réponse acoustique dans le développement larvaire ...	- 192 -
I.5. Définir une aire d'impact acoustique sur des larves	- 194 -
II. Enjeux pour les futurs chantiers offshore	- 198 -
II.1. Transcription des résultats dans le milieu naturel	- 198 -
II.1.1. Etude en laboratoire vs terrain	- 198 -
II.1.2. Effets cumulés des perturbations des chantiers offshore	- 199 -
II.1.3. Effet récif et effet réserve	- 202 -
II.2. Règlementations encadrant la réduction de la pollution sonore	- 204 -
II.2.1. Initiatives mondiales, européennes et françaises	- 204 -
II.2.2. Encadrement des projets éoliens	- 206 -
II.3. Moyens techniques de réduction d'impact	- 207 -
II.3.1. Méthodes d'évitement	- 207 -
II.3.2. Réduire les émissions	- 209 -
II.3.3. Limiter la propagation	- 210 -
III. Perspectives d'études complémentaires	- 212 -
III.1. Perfectionnement du dispositif expérimental	- 212 -
III.2. Intégrer les interactions multifactorielles	- 214 -
III.3. Persistance de l'effet acoustique sur le cycle de vie	- 217 -
III.4. Autres mesures de l'impact acoustique	- 218 -
Annexes	- 223 -
Bibliographie	- 243 -

Table des Figures

Introduction

Figure 1 : Propagation d'une onde acoustique dans un milieu	- 18 -
Figure 2 : Grandeurs de mesure de l'énergie acoustique	- 21 -
Figure 3 : "Today's Ocean Soundscape" par European Marine Board, représentation des nombreuses sources sonores dans le paysage acoustique marin	- 22 -
Figure 4 : Diagramme de Wenz (1962)	- 23 -
Figure 5 : Gammes de production sonore des animaux en fonction du taxon	- 25 -
Figure 6 : Séquence d'images montrant la fermeture rapide de la pince d'une crevette-pistolet.....	- 26 -
Figure 7 : Sources anthropiques d'introduction de sons dans le paysage acoustique marin et fréquences associées	- 27 -
Figure 8 : Les trois types d'éoliennes offshore les plus couramment installées	- 29 -
Figure 9 : Représentation schématique du système auditif de la baleine bleue	- 31 -
Figure 10 : <i>Abdominal Sensory Organ</i> de pétoncle japonais <i>Mizuchopecten jessoensis</i> observé en microscopie électronique à balayage	- 33 -
Figure 11 : Schéma d'un statocyste de <i>Pecten maximus</i>	- 34 -
Figure 12 : Coquille Saint-Jacques équipée d'un accéléromètre/valvomètre	- 35 -
Figure 13 : Gammes d'audition des animaux marins en fonction du taxon.....	- 36 -
Figure 14 : Evolution du nombre d'articles concernant les études d'impact acoustique sur les invertébrés comparée à l'augmentation des études sur tous les taxons	- 37 -
Figure 15 : Epithéliums de statocystes de seiches <i>Sepia officinalis</i> en microscopie électronique à balayage normal et après exposition de 2h à un 'sweep'	- 38 -
Figure 16 : Représentation schématique des interactions entre les effets physiques, comportementaux et physiologiques du stress acoustique, illustrées sur les céphalopodes	- 41 -
Figure 17 : Evolution et prévisions des émissions et puits de gaz à effet de serre pour atteindre l'objectif de « Net Zero Emissions » d'ici 2050	- 44 -
Figure 18 : Carte des projets éoliens en développement sur les côtes françaises	- 45 -
Figure 19 : Carte d'implantation sur 75 km du parc éolien de Saint-Brieuc.....	- 46 -
Figure 20 : Cycle de vie de la coquille Saint-Jacques	- 49 -
Figure 21 : Deux bassins <i>Larvosonic</i> dans leur configuration expérimentale.....	- 51 -
Figure 22 : Schéma récapitulatif des différences et similitudes entre les chapitres du manuscrit.....	- 53 -

Chapitre 1

- Figure 23:** General description of the *Larvosonic* system in 3D view and cross-section - 68 -
- Figure 24:** Power spectral densities of in situ recordings and recorded at the center of the *Larvosonic* system as well as time course during pile-driving or drilling sound emissions..... - 79 -
- Figure 25:** Waveform of a spiny lobster antennal rasps recorded either *in situ* or in the *Larvosonic* system with or without diffusers - 79 -
- Figure 26:** Spectrograms of the chirp recorded either in a large pool or in the *Larvosonic* system including all components, or without diffusers, and without diffusers nor cylinders (D) - 81 -
- Figure 27:** Acoustic impedance as measured at two different positions in the tank - 82 -
- Figure 28:** Signal energy at the source and received at two different positions in the tank - 83 -
- Figure 29:** Mean growth rate of post-larvae exposed to two diets or four intensities of drilling..... - 84 -

Chapitre 2

- Figure 30:** Schematic representation of the experimental protocol, showing eight *Larvosonic* devices containing six replication units and four multiwell plates each..... - 103 -
- Figure 31:** Mean metamorphosis rate of larvae exposed to the different intensities of pile driving and drilling for total fraction - 109 -
- Figure 32:** Mean daily growth of larvae exposed to increasing levels of pile driving sound among crawlers fraction..... - 110 -
- Figure 33:** Mean daily growth of larvae exposed to two diets among crawlers fraction - 111 -

Chapitre 3

- Figure 34:** Graphical representation of the experimental design - 135 -
- Figure 35:** Results of the maternal effects of sound exposure : Giese gonadic index and atrophied egg ratio of *P. maximus* adults exposed to increasing levels of pile driving, survival rate of pediveliger larvae from exposed parents, and adult and larval exposure interaction effect on post-larvae survival rate, daily growth of D-veliger and metamorphosis rate of pediveliger..... - 140 -

Chapitre 4

- Figure 36:** Graphical representation of the experimental protocol - 162 -

Discussion générale

Figure 37 : Représentation schématique de la théorie de la « larve désespérée »	- 189 -
Figure 38 : Concept de « fenêtre-critique »	- 193 -
Figure 39 : Larves pédivéligères de coquilles Saint-Jacques et leurs statocystes	- 194 -
Figure 40 : Zones d'influence des émissions sonores	- 195 -
Figure 41 : Représentation de la « fenêtre critique » tridimensionnelle	- 197 -
Figure 42 : Diagramme résumant les caractéristiques des approches de laboratoire et de terrain...	- 198 -
Figure 43 : Illustrations de l'effet récif sur les structures immergées des éoliennes.....	- 202 -
Figure 44 : Schéma résumé des effets positifs et négatifs des parcs éoliens offshore sur l'environnement marin	- 204 -
Figure 45 : Etapes d'une étude d'impact préliminaire à un chantier éolien	- 207 -
Figure 46 : Schéma récapitulatif des mesures mises en place pour prévenir, éviter et réduire l'impact des bruits d'installation offshore sur la faune marine	- 208 -
Figure 47 : Prototypes d'éoliennes offshore visant à réduire la pollution sonore pendant leur phase d'installation : éolienne flottante à ancrage léger et à fondation gravitaire.....	- 210 -
Figure 48 : Différentes méthodes d'atténuation de la propagation de l'onde sonore autour d'un battage de pieu : rideau de bulles, <i>hydro sound damper</i> et bloc isolant.....	- 211 -

Table des Tableaux

Introduction

Table 1 : Variables descriptives du son - 19 -

Chapitre 1

Table 2: Parameters used to calculate theoretical resonant frequencies using the model from Novak et al. (2018) - 71 -

Table 3: Level of noise emitted in the *Larvosonic* system during the great scallop experiments expressed as SPLpp or rms as well as SEL24h - 73 -

Table 4: Summary of the resonant frequencies observed on the chirp recorded in the *Larvosonic* system, and associated theoretical resonant frequencies obtained from theoretical model..... - 80 -

Chapitre 2

Table 5: Mean daily clearance rate of *Pecten maximus* pediveliger larvae exposed to increasing levels of drilling or pile driving sounds - 111 -

Table 6: Fatty acid composition of scallop pediveliger larvae control and exposed to drilling sound - 113 -

Chapitre 4

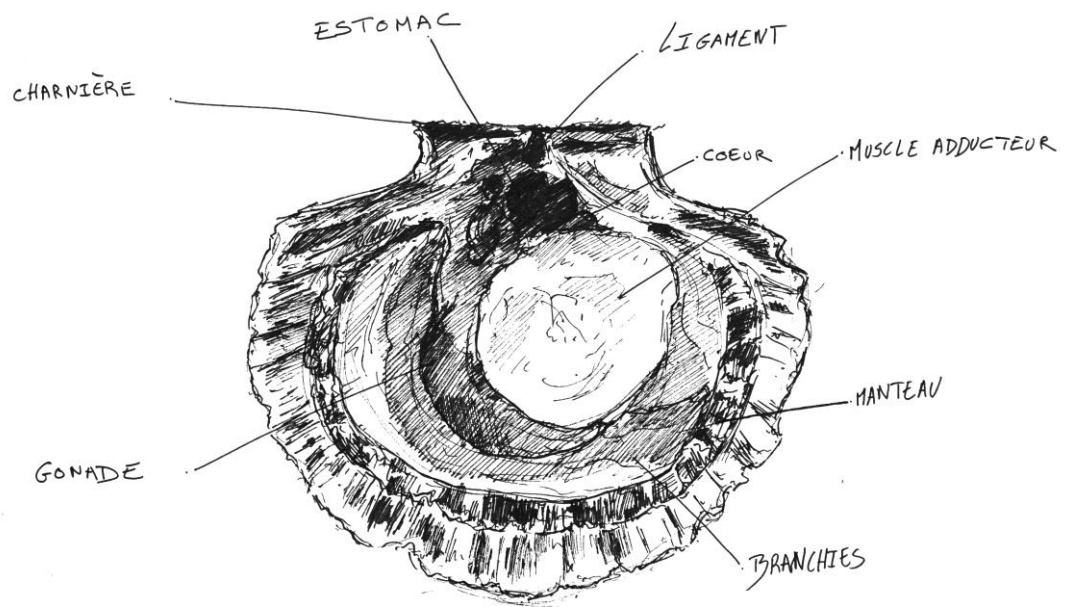
Table 7: Thermal modulation of physiological state - 169 -

Table 8: Sound x temperature interaction on veliger larvae - 171 -

Table 9: Sound x temperature interaction on pediveliger larvae - 173 -

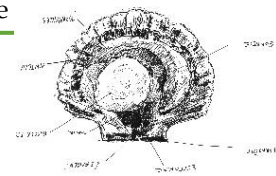
Discussion générale

Table 10 : Tableau récapitulatif des résultats significatifs concernant les effets directs de l'exposition au son des larves - 187 -



© Liz Hascoët / Fovearts

Introduction



I. Acoustique marine

Le but de cette thèse était d'appréhender les potentiels impacts de sons anthropiques sur des larves de bivalves par une approche expérimentale au laboratoire. Loin d'être un facteur comme les autres, le son est un paramètre complexe dont il convient de comprendre les propriétés physiques afin de l'approcher correctement. Cette première partie vise à apporter les connaissances nécessaires à la bonne compréhension du paramètre d'étude et à son utilisation. Elle pose un socle de termes et de notions acoustiques qui seront repris tout au long du manuscrit. Un tableau récapitulatif (Table 1) en fin de partie I.1.1. résume les valeurs descriptives du son et leurs abréviations attitrées.

Dans un second temps seront présentées la notion de paysage acoustique marin et une description non exhaustive des multiples sources qui le composent.

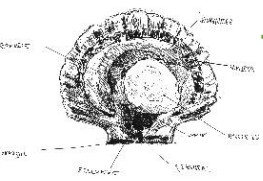
I.1. Bases de l'acoustique

I.1.1. Caractériser un son

Le son est une onde mécanique directionnelle qui se propage par compressions et expansions successives d'un milieu élastique. Une perturbation mécanique déplace les particules¹ du milieu qui vont osciller autour de leur position de base. Ce mouvement particulaire se transmet alors de proche en proche en faisant bouger les particules voisines (Figure 1). Les particules ne se déplacent pas avec l'onde mais oscillent autour d'une position d'équilibre, de sorte qu'en absence théorique de courant la position de chaque particule revient à celle d'origine après le passage de l'onde acoustique. Le mouvement particulaire est une grandeur vectorielle, décrite dans les trois dimensions de l'espace et dont la valeur peut être exprimée en **vitesse particulaire** (u en $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$), en **accélération** (a en $\text{m}\cdot\text{s}^{-2}$) ou en **déplacement** (d en m). Bien que difficile à mesurer, la vitesse particulaire est la grandeur détectée par certains animaux marins comme les invertébrés, ce qui en fait une notion centrale de la bioacoustique marine (voir paragraphe II.1.2.).

Les mouvements particuliers créent des variations locales et momentanées de la pression (compression et expansion, Figure 1). Ainsi, la **pression acoustique** P est la force qui s'applique par unité de surface. Elle s'exprime en Pascal ($1 \text{ Pa} = 1 \text{ Newton}/\text{m}^2$).

¹ Une particule acoustique désigne une portion de matière suffisamment petite par rapport à la longueur de l'onde pour être considérée comme ponctuelle. Il ne s'agit pas d'une molécule ou d'un atome.



L'**intensité acoustique** est le flux d'énergie acoustique traversant une unité de surface perpendiculairement à la direction de propagation. Proportionnelle au carré de la pression acoustique, elle est la somme de l'énergie potentielle de l'onde, liée à la pression acoustique, et de l'énergie cinétique, liée au mouvement particulaire. Dans un champ acoustique théorique libre (e.g. une onde plane), le ratio entre pression acoustique et vitesse particulaire est constant et défini par l'équation : $P = \rho c u$, où ρ est la densité de l'eau (kg.m^{-3}), c la vitesse du son dans l'eau (m.s^{-1}), et ρc l'impédance acoustique du milieu.

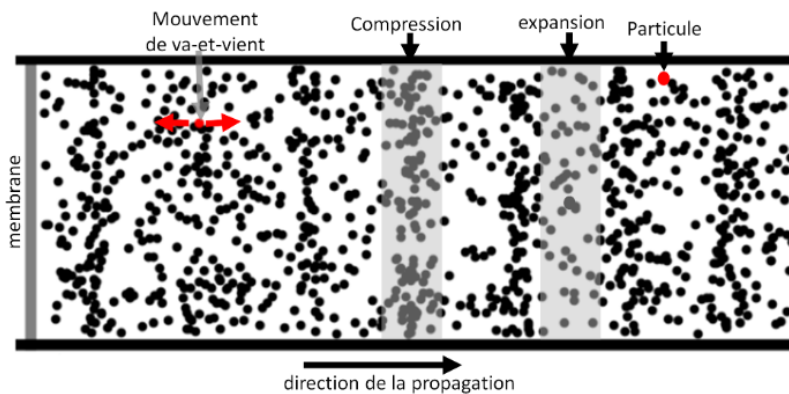


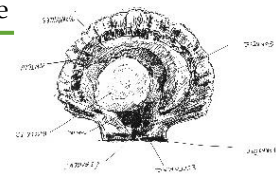
Figure 1 : Propagation d'une onde acoustique dans un milieu (Charifi, 2018). Les particules oscillent autour d'une position de base et transmettent leur mouvement à leurs voisines créant des zones de compression et d'expansion.

Comme toutes les ondes, un son peut se caractériser par sa durée t , sa vitesse c , sa fréquence f , sa période T , sa longueur d'onde λ et son amplitude. La **durée** t est l'intervalle de temps pendant lequel l'onde existe et permet de définir le type de son, impulsionnel (transitoire) ou continu.

La **vitesse d'une onde** c est la vitesse de propagation dans le milieu et elle ne doit pas être confondue avec la **vitesse particulaire** u . La vitesse du son dépend de la nature et des propriétés du milieu dans lequel il se propage. Ainsi dans l'air, le son se déplace à environ 340 m.s^{-1} , tandis que sa vitesse moyenne dans l'eau douce est de 1340 m.s^{-1} et que celle dans l'eau de mer est de 1500 m.s^{-1} . La vitesse des sons marins dépend à la fois de la salinité, de la température et de la pression, donc de la profondeur. Elle peut notamment être donnée par la relation empirique (d'après l'équation d'état de l'eau de mer, IES80) :

$$c = 1449.2 + 4.6C - 0.055C^2 + 0.00029C^3 + (1.34 - 0.010C)(S - 35) + 1.58 \times 10^{-6}P$$

où c est la vitesse en m.s^{-1} , C la température en $^{\circ}\text{C}$, S la salinité en psu et P la pression en Pa. On peut remplacer $(1.58 \times 10^{-6}P)$ par $0.016z$, avec z la profondeur.

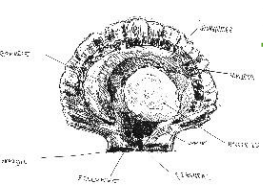


La **fréquence** f , mesurée en Hertz (Hz), est le nombre d'oscillations de la pression acoustique (le nombre de cycles pression-dépression) par seconde. Plus la fréquence est élevée plus le son est perçu comme aigu. Lorsque la fréquence d'un son double, le son augmente d'une octave. Une onde peut contenir une ou plusieurs composantes fréquentielles. Le contenu en fréquences ou spectre acoustique est la puissance d'une onde sonore à toutes ses fréquences. La durée d'un cycle est appelée la **période** T (Figure 2). Elle est exprimée en seconde (s) et est l'inverse de la fréquence : $T = \frac{1}{f}$.

La **longueur d'onde** λ exprimée en mètre (m) représente la distance parcourue par l'onde pendant une période et est fonction de la fréquence et de la vitesse : $\lambda = \frac{c}{f}$.

Table 1 : Variables descriptives du son.

Paramètre	abréviation	unité	Définition
Température	C	Degré Celsius (°C)	
Salinité	S	Practical salinity unit (psu)	1 psu = 1 g de sel / kilo d'eau de mer
Densité	ρ	Kilogramme mètre carré (kg.m ⁻³)	
Durée	t	Seconde (s)	
Pression	P	Pascal (Pa)	1 Pa = 1 Newton/m ²
Vitesse de propagation	c	mètre seconde (m.s ⁻¹)	$1449.2 + 4.6C - 0.055C^2 + 0.00029C^3 + (1.34 - 0.010C)(S - 35) + 1.58 \times 10^{-6}P$
Vitesse particulière	u	(m.s ⁻²)	$\frac{P}{\rho c}$
Fréquence	f	Hertz (Hz)	$\frac{c}{\lambda}$
Période	T	seconde (s)	$\frac{1}{f}$
Longueur d'onde	λ	mètre (m)	$\frac{c}{f}$
Sound Pressure Level	SPL	dB re 1 μPa	$20 \log_{10} \left(\frac{P}{P_{ref}} \right)$
Sound Exposure Level	SEL	dB re 1 μPa.s ⁻¹	$10 \log_{10} \int_t p(t)^2 dt$



I.1.2. Les unités de mesure acoustique

Lors de l'émission d'un son, la pression de l'onde s'ajoute à la pression moyenne du milieu. Cette surpression, appelée pression acoustique, est périodique et passe par des états maximum et minimum qui se répètent et constituent l'amplitude de l'onde.

La mesure d'un son dans l'eau peut être donnée par une mesure absolue en Pa, ou relativement (re.) à la pression de référence appelée P_{ref} égale à 1 μPa dans l'eau et 20 μPa dans l'air. Les niveaux sonores dans l'air et dans l'eau ne peuvent donc pas être comparés directement. Le décibel (dB) est l'unité logarithmique appliquée au niveau sonore qui permet de représenter sur une même échelle des ordres de grandeur très différents comme c'est le cas en acoustique. Par exemple une pression de 10 μPa équivaut à un niveau sonore de 20 dB re. 1 μPa alors qu'une pression de 1 000 000 μPa vaut un niveau de 120 dB re.1 μPa . La somme de deux sources acoustiques n'est pas la somme des niveaux sonores mais la somme des deux ondes. Ainsi, à un doublement de l'intensité sonore par ajout d'une seconde source identique correspond un accroissement de 3 dB.

Le niveau de pression acoustique ('*Sound Pressure Level*' ou **SPL**) quantifie le niveau sonore, ou amplitude de l'onde, par la relation :

$$SPL = 20 \log_{10} \left(\frac{P}{P_{ref}} \right)$$

Un SPL peut être calculé de différentes manières selon la nature du son (Figure 2) :

- soit en crête à crête ('*peak-to-peak*') par la différence entre les pressions maximale et minimale, pour décrire des sons impulsionnels,

$$SPL_{p-p} = 20 \log_{10} (\max(|p(t)|) - \min(|p(t)|))$$

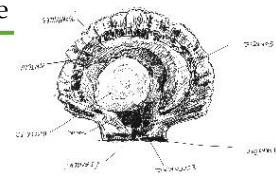
- soit en crête ('*peak*') par la différence entre la pression maximale et celle à l'équilibre, également pour décrire des sons impulsionnels,

$$SPL_{peak} = 20 \log_{10} (\max(|p(t)|))$$

- soit en valeur efficace ('*root mean square*') par la racine carrée de la différence de pression moyenne intégrée sur un intervalle de temps (t) de plusieurs cycles (e.g. 30 secondes), pour décrire des sources continues,

$$SPL_{rms} = 20 \log_{10} \sqrt{\frac{1}{t} \int_t p(t)^2 dt}$$

où t est la série temporelle de pression acoustique enregistrée, le tout en dB re.1 μPa .



Une autre mesure, le **SEL** (*'Sound Exposure Level'*), permet d'exprimer la dose d'énergie sonore reçue sur une durée t et s'exprime donc en dB re. $1 \mu\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$:

$$\begin{aligned} SEL &= 10 \log_{10} \int_t p(t)^2 dt \\ &= SPL_{rms} + 10 \log_{10}(L) \end{aligned}$$

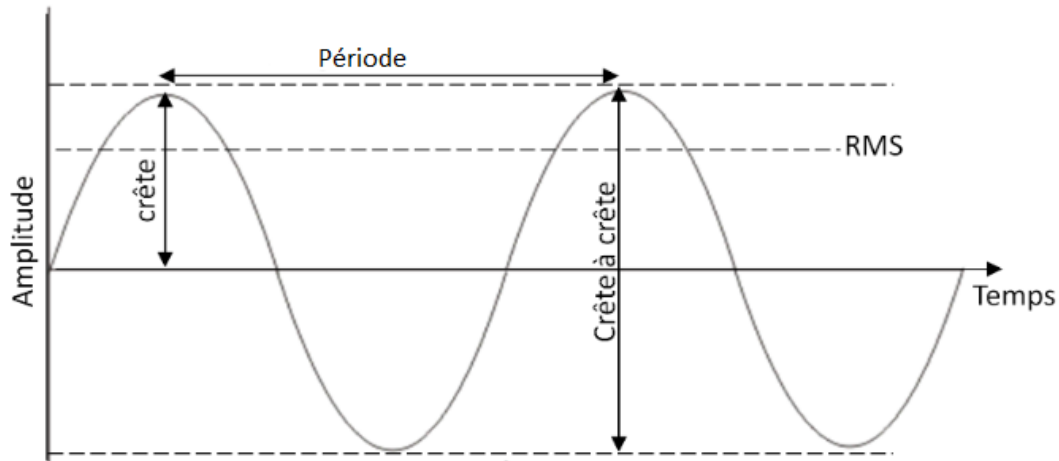
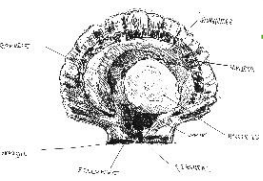


Figure 2 : Grandeurs de mesure de l'énergie acoustique (d'après Charifi, 2018).

Les seuils de limitation du bruit sont le plus souvent donnés en SEL car cette mesure rend compte à la fois du niveau sonore et de la durée d'exposition. Ces seuils ont été exclusivement déterminés par des études d'impact sur les mammifères marins (Southall et al., 2019). Les instructions de réduction du bruit marin ajoutent généralement au SEL un SPL limite en ce qui concerne les bruits impulsionnels. Les niveaux (SPL ou SEL) sont dits « large bande » lorsqu'ils sont calculés sur une bande particulière de fréquences, comme la bande d'audition d'une espèce. De plus, ils sont décrits pour une distance à la source donnée. Un niveau à la source sera noté @1m tandis qu'un niveau enregistré à 100 m de la source sera noté @100m.

I.2. Le paysage acoustique marin

Le bruit ambiant sous-marin est l'addition d'une multitude de sons provenant de sources plus ou moins distantes, à des fréquences et amplitudes variées. La **biophonie** regroupe les sons produits par les animaux marins, volontairement ou non. La **géophonie** comporte les bruits d'origine abiotique tels que la pluie, le vent, les vagues, les



tremblements de terre ou les bris de banquise. Ainsi, chaque milieu possède des caractéristiques acoustiques qui lui sont propres (Bertucci et al., 2017) et qui dépendent, entre autres, des espèces présentes, des conditions météorologiques, de la géologie des lieux, du type de fond, de la hauteur d'eau... À ces deux composantes sonores vient s'ajouter l'**anthropophonie**, décrite comme l'ensemble des bruits produits par les activités humaines. La Figure 3 résume toutes les sources sonores dans le milieu marin. Les travaux de (Wenz, 1962) ont largement contribué à caractériser le bruit ambiant. La Figure 4 donne les fréquences et niveaux sonores associés à chaque composante du bruit sous-marin.

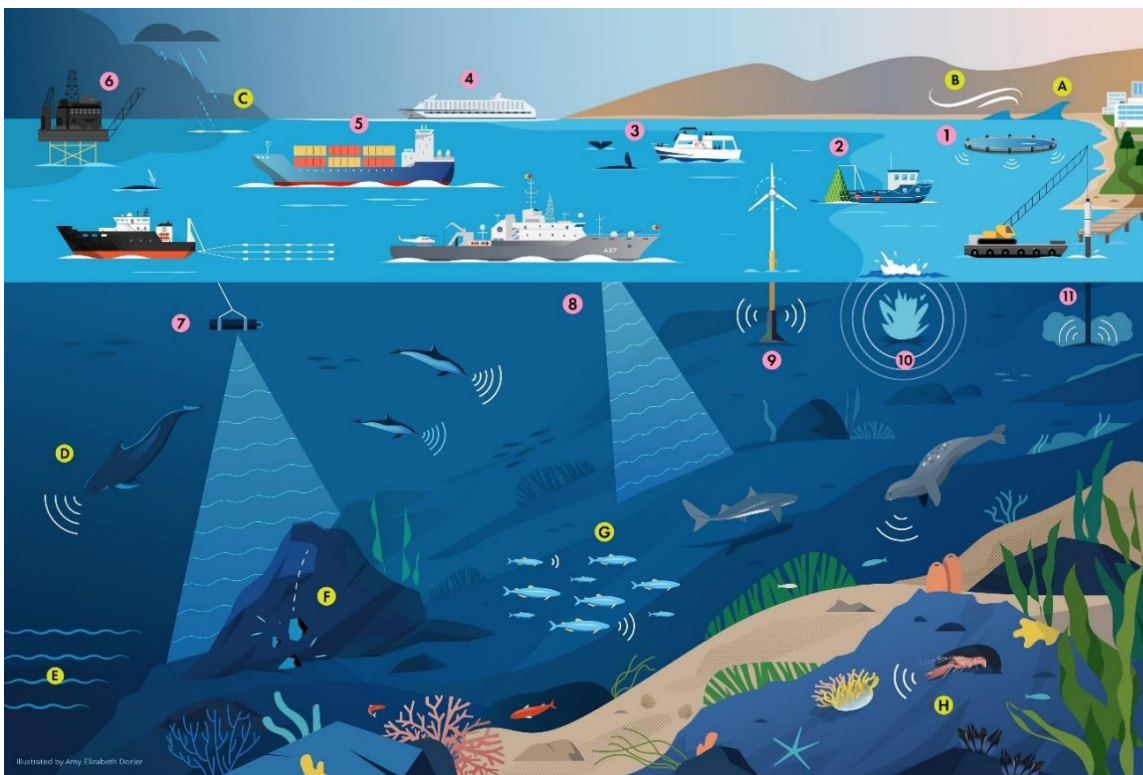
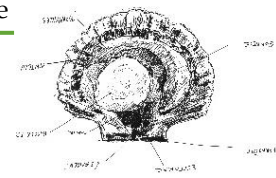


Figure 3 : "Today's Ocean Soundscape" par European Marine Board (Thomsen et al., 2021). Représentation des nombreuses sources sonores dans le paysage acoustique marin. Les lettres correspondent à des sources naturelles (A : vagues, B : vent, C : pluie, D : mammifères marins, E : courants, F : glissements de terrains, volcans et tremblements de terre, G : poissons, H : invertébrés) et les chiffres à des sources anthropiques (1 : dispositifs de dissuasion acoustique, 2 : bateaux de pêche, 3 : bateaux de plaisance, 4 : bateaux de croisière, 5 : transport maritime, 6 : exploitations pétrolière et gazière, 7 : Exploration sismique par canons à air, 8 : sonars militaire et civil, 9 : énergie renouvelable marine, 10 : explosif, 11 : construction et battage de pieu).



I.2.1. Géophonie

L'état de la mer et les perturbations à l'interface entre l'air et l'eau de surface influencent largement le paysage acoustique, notamment au-dessus de 100 Hz, comme en témoignent les importantes variations qui suivent l'échelle de Beaufort (Figure 4 ; Wenz, 1962). De la force du vent dépend le niveau du bruit ambiant (Hildebrand et al., 2021; Mathias et al., 2016) et l'agitation de l'eau de surface par le vent et les bris de vagues contribuent principalement au contenu en fréquences moyennes (au-dessus de 1 kHz). Dans la zone de déferlement, l'intensité des vagues peut augmenter le niveau sonore de plus de 20 dB (Wilson et al., 1985).

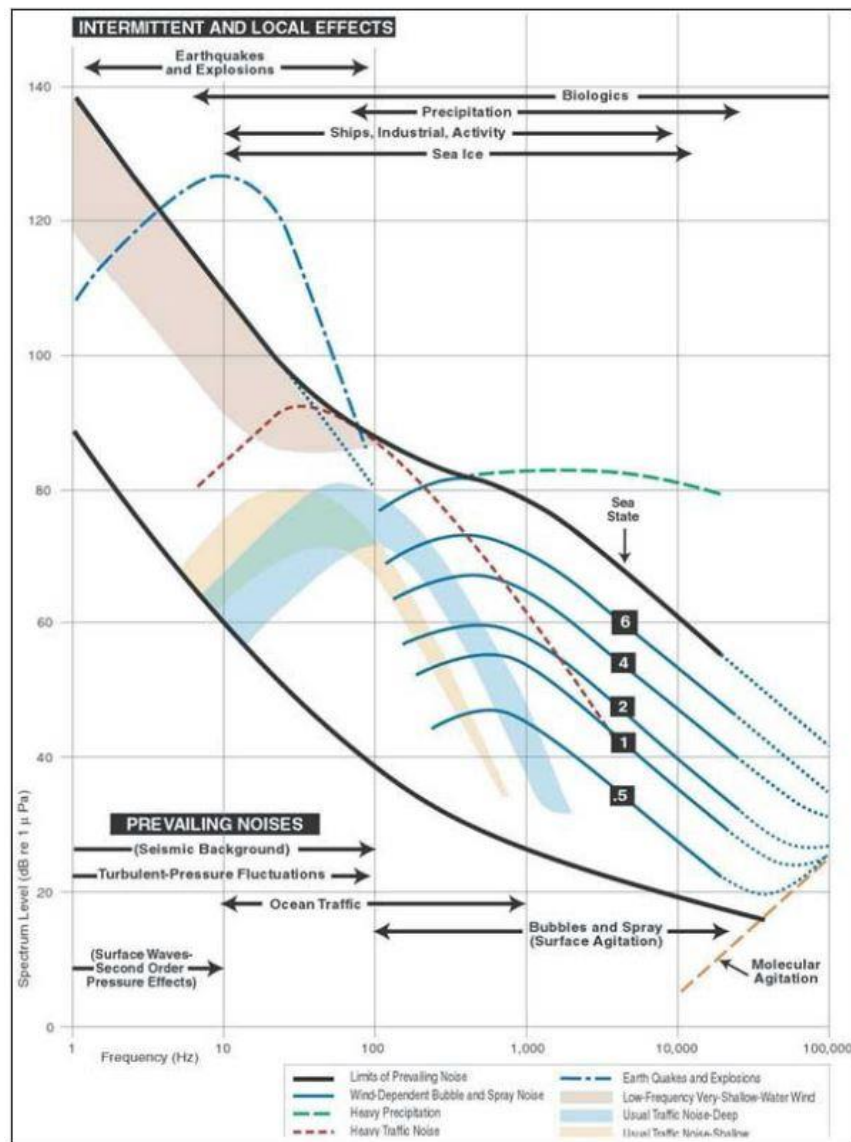
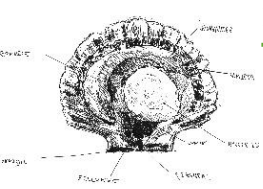


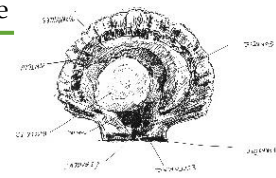
Figure 4 : Diagramme de Wenz (1962) par Tasker et al., (2010).



La chute des gouttes de pluie à la surface de l'eau produit de rapides augmentations locales de pression à l'origine de bruits impulsionnels large bande entre 4 et 21 Hz (Nystuen et al., 1993). Les microbulles d'air injectées dans l'eau au moment de l'impact produisent aussi des sons à leur fréquence de résonance qui est dépendante de leur dimension (Franz, 1959) (voir paragraphe III.3.1.). Les précipitations sont donc responsables d'émissions sonores dans la bande de fréquences 500 Hz à 10 kHz, à des niveaux dépendants de l'intensité de la précipitation (Ma et al., 2005). Le bruit thermique généré par l'agitation moléculaire locale qui domine le paysage acoustique dans la gamme de fréquences au-dessus de 50 kHz (Mellen, 1952). Selon un modèle théorique, le mouvement aléatoire des molécules d'eau est ainsi responsable d'une augmentation du bruit de 6 dB par octave. Il est redouté dans la communauté acoustique puisqu'il réduit la sensibilité de détection des hautes fréquences (>50 kHz).

Plus irrégulièrement, le tonnerre produit des niveaux élevés de sons de basses fréquences dans l'eau. Dans la bande de fréquences de 50 à 250 Hz, une augmentation de 15 dB du niveau ambiant a déjà été enregistrée à environ 10 km d'un impact d'éclair (Dubrovskiy and Kosterin, 1993). Egalement transitoires et émettant des fréquences basses, les séismes sont une composante importante du paysage acoustique marin naturel. Jusqu'à un an avant le séisme, des bruits associés au bouillonnement magmatique peuvent être enregistrés entre 1 et 50 Hz (Vandemeulebrouck et al., 2000). Egalement précédant le séisme, la convection des gaz magmatiques produit des bruits entre 500 et 5000 Hz et les modifications de la matrice rocheuse émettent des ultra-sons entre 20 et 100 kHz (Vandemeulebrouck et al., 2000). À la suite d'un séisme, plusieurs types d'ondes sismiques se propagent avec différentes propriétés et vitesses. D'abord les ondes longitudinales P se propagent rapidement dans l'eau (Butler, 2006), puis les ondes de surface se propagent plus lentement à des fréquences inférieures à 10 Hz (Webb, 1998).

Enfin, certains bruits sont associés à des milieux particuliers comme par exemple les craquements et bris de glace dont la signature acoustique est caractéristique des milieux polaires (Xie and Farmer, 1992), tout comme les bruits associés à la dérive des icebergs et aux courants (Kinda et al., 2013).



I.2.2. Biophonie

La production (Figure 5) et l'utilisation du son par les mammifères marins ont été largement étudiées (Erbe et al., 2016) et reliées à l'orientation dans le milieu, aux interactions sociales, aux parades nuptiales et à la détection de proies et de prédateurs. Presque toutes les fonctions vitales des mammifères marins reposent sur l'indice acoustique. Ils possèdent des gammes d'audition très larges, allant de quelques centaines de Hertz à près de 200 kHz. Les odontocètes (dauphins, cachalots...) possèdent de remarquables capacités d'écholocation grâce à leur système de bio-sonar et peuvent moduler les signaux émis en fréquence (jusqu'à 200 kHz), en durée et en amplitude (Ketten, 1992). Les mysticètes (baleines) et les pinnipèdes (phoques, otaries, morses...) produisent des vocalisations pour les interactions sociales (Erbe, 2011) mais aussi involontairement lors de l'alimentation (Isojunno et al., 2016).

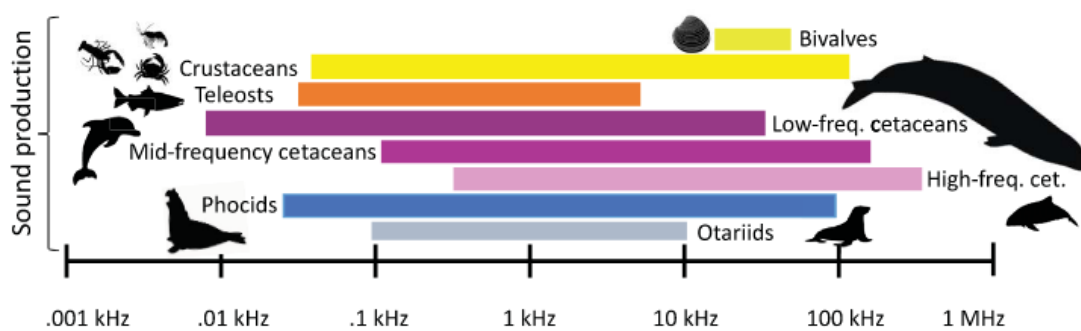
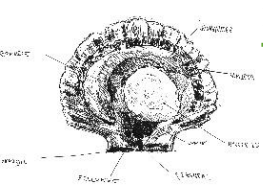


Figure 5 : Gammes de production sonore des animaux en fonction du taxon (Duarte et al., 2021).

Les poissons utilisent le son pour échapper à leurs prédateurs (Doksæter et al., 2009) ou trouver leurs proies (Popper et al., 2001). Une partie d'entre eux produit volontairement des sons lors de comportements sociaux tels que les parades nuptiales (Amorim and Vasconcelos, 2008) ou les interactions compétitives pour la nourriture ou l'espace. Les vocalisations s'étendent des basses aux moyennes fréquences selon les espèces (<100 Hz à 8 kHz ; Figure 5) avec une majorité en dessous de 1000 Hz (Hildebrand, 2009). Certains sons sont aussi produits de manière involontaire lors de l'alimentation ou lors de la nage.

Parmi les invertébrés, les crustacés sont les plus étudiés pour leur production sonore qui leur sert à attirer des partenaires ou à se défendre en effrayant des prédateurs ou concurrents. Les crevettes-pistolets du genre *Alpheus* spp. et *Synalpheus* spp. sont



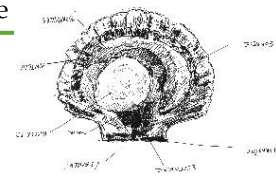
connues pour émettre des clics en fermant rapidement leur pince, créant ainsi une bulle de cavitation (Figure 6 ; Knowlton and Moulton, 1963). Ces clics large bande et de niveau source élevé (20 Hz à 200 kHz ; 190 à 210 dB SPL_{p-p} ; Versluis et al., 2000) peuvent augmenter le niveau ambiant de 25 dB (SPL_{rms}) et dominer ainsi le paysage acoustique des eaux intertropicales et subtropicales dans les moyennes fréquences (Everest et al., 1947).



Figure 6 : Séquence d'images montrant (1-2) la fermeture rapide de la pince d'une crevette-pistolet (3-4) créant une bulle de cavitation (5) qui implose (Department of Applied Physics, University of Twente).

En situation de stress ou en présence de nourriture, le homard européen *Homarus gammarus* fait vibrer sa carapace, produisant ainsi un son basse fréquence (Jézéquel et al., 2018). Les mollusques ne produisent que très rarement du bruit et vraisemblablement de manière involontaire. Certains calamars génèrent de légers sons basse fréquence avec une intensité maximum d'environ 1500 Hz, en expulsant de l'eau par leurs siphons (Iversen et al., 1963). Parmi les bivalves, *Mytilus edulis* émet une sorte de craquement et *Pecten maximus*, en fermant ses valves, produit un claquement impulsif et de haute énergie entre 3 kHz et 48 kHz (Di Iorio et al., 2012). Cette production sonore entraîne une augmentation du niveau ambiant, par exemple au-dessus des récifs d'huîtres, d'environ 15 dB entre 2000 et 23 000 Hz (niveau SPL_{rms} variant de 95 à 110 dB re. 1 μ Pa ; Eggleston et al., 2016). Lorsqu'ils broutent, les oursins produisent un son particulier, entre 800 et 2800 Hz, amplifié par leur squelette calcaire qui agit comme une caisse de résonance (Radford et al., 2008).

La biophonie comporte aussi les bruits produits par les végétaux : l'activité photosynthétique des macroalgues produit des bulles d'oxygène qui en remontant à la surface sont excitées à leur fréquence de résonance et produisent des sons au-dessus de 2 kHz (Freeman et al., 2018).



I.2.3. Anthrophonie

Aux paysages acoustiques dits naturels viennent s'ajouter les bruits produits par les activités humaines, l'anthrophonie. Le son est considéré aujourd'hui comme une pollution d'intérêt majeur (Slabbekoorn et al., 2010). Exploration sismique, construction, transport, pêche... nombreuses sont les sources de perturbations sonores (Figure 7) dans un monde où les activités humaines sont en perpétuelle croissance.

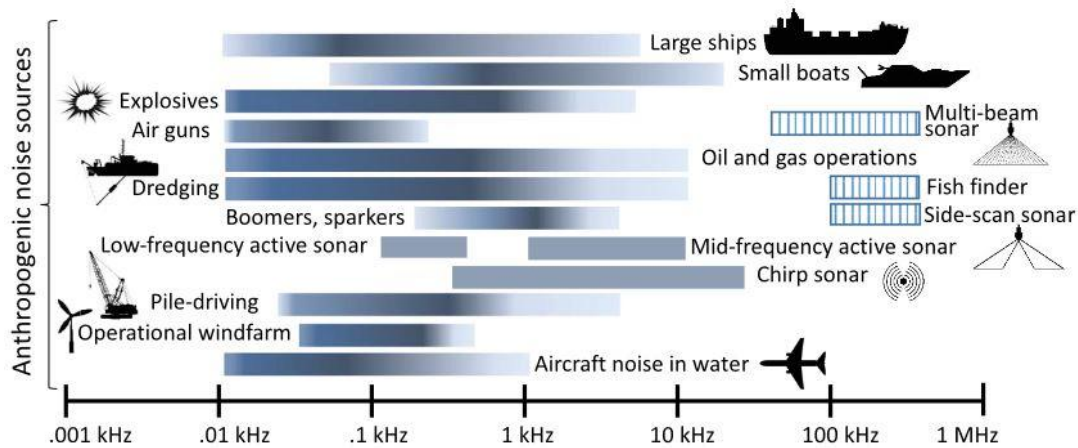
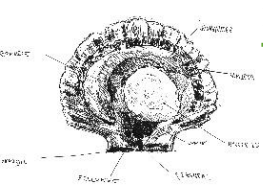


Figure 7 : Sources anthropiques d'introduction de sons dans le paysage acoustique marin et fréquences associées. Les dégradés sont proportionnels à l'énergie produite dans la bande de fréquences et les bandes hachurées représentent le caractère multi-fréquentiel des sonars (Duarte et al., 2021).

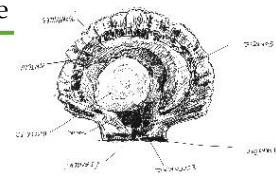
Le trafic maritime est une source de niveau intermédiaire mais en raison du grand nombre de bateaux, de leur large distribution et de leur circulation permanente (Hildebrand, 2009), il contribue majoritairement à l'anthrophonie (McKenna et al., 2012). Les passages de bateaux sont des bruits continus, dont les niveaux sonores et contenus fréquentiels dépendent largement de la taille des navires et de leur vitesse. Les niveaux moyens enregistrés pour un navire commercial sont de 140 à 195 dB re 1 μ Pa à la source (SPL_{rms}) (Hildebrand, 2009). Le trafic maritime émet des sons large bande entre 6 Hz et 30 kHz avec une intensité maximale située dans les plus basses fréquences. Entre 1950 et 2007, le niveau ambiant de l'océan Pacifique nord-est a augmenté de 19 dB re 1 μ Pa pour la bande de fréquences 25-50 Hz, faisant doubler, chaque décennie, le niveau sonore moyen (e.g. 3.3 dB par décennie; Chapman and Price, 2011; Frisk, 2012). Le trafic maritime en est le principal responsable. Le transport de marchandises est souvent pointé du doigt pour sa large participation à la pollution sonore mais les activités de plaisance et de loisirs occupent, elles aussi, une part importante du paysage acoustique côtier (Popper et al., 2003).



D'autres activités produisent des sons à des niveaux bien plus élevés telle que l'utilisation de sonars qui repose sur l'émission d'un signal et l'analyse de l'onde réfléchiée. L'emploi de sonars à des fins militaires est courant pour détecter et localiser des objets divers tels que des navires, des sous-marins, des mines, des torpilles, etc. Trainés par un bateau ou suspendus depuis un hélicoptère, ils émettent des sons courts de moyennes (100-500 Hz) ou hautes fréquences (1-8 kHz) à des niveaux allant jusqu'à 235 dB re. 1 μ Pa @ 1m (Hildebrand, 2009). Les sonars civils sont utilisés pour étudier la bathymétrie des fonds marins, à des fins de plaisance, de pêcheries, mais aussi de surveillance de l'environnement ou de constructions. Ces sondeurs émettent des signaux impulsionnels dans la bande 10-200 kHz à un niveau sonore pouvant aller jusqu'à 225 à 245 dB re. 1 μ Pa @ 1m. La structure du fond (sédiment, roche, etc.) peut être déterminée par des sondeurs monofaisceaux entre 204 et 222 dB re. 1 μ Pa @ 1m, dont les basses fréquences (50 Hz – 4 kHz) permettent une pénétration dans le sédiment. Les sondeurs de pêche sont aujourd'hui massivement utilisés pour localiser les bancs de poissons.

Parmi les activités anthropiques les plus étudiées pour leur production acoustique, l'exploration sismique est utilisée pour explorer la géologie du plancher océanique et détecter des ressources enfouies telles que le pétrole ou le gaz. Les explosions ont été largement utilisées pour l'exploration sismique, le retrait de constructions ou les opérations militaires. Le niveau sonore dépend bien évidemment de la charge d'explosif mais à titre d'échelle, l'explosion de 4 536 kg d'équivalent TNT produit un bruit de 304 dB re 1 μ Pa @ 1 m dont l'énergie maximale est dans la bande de fréquences 0,5 - 50 Hz (Hildebrand, 2009). Désormais préférée au maniement d'explosifs, l'exploration sismique par canons à air repose sur l'émission d'impulsions répétées de basse fréquence et de haute intensité sur des milliers de kilomètres carrés. Si le niveau à la source dépend largement de la taille et du nombre de canons, il est usuellement aux alentours de 250 dB re 1 μ Pa @ 1m (SPL_{rms}) et l'énergie acoustique maximale est comprise entre 5 et 300 Hz (Hildebrand, 2009).

Parmi les opérations les plus sonores figurent le battage de pieu et le forage liés aux aménagements portuaires ou aux constructions offshore telles que les parcs éoliens. Les bruits engendrés par ces deux types de travaux ont fait l'objet de ce projet de thèse. Les émissions sonores associées aux éoliennes offshore sont spécifiques à chacune des phases du projet : caractérisation du site, construction, exploitation, maintenance et



démantèlement. La phase d'installation nécessite des travaux de battage de pieu et de forage qui produisent des sons basse fréquence à des niveaux très élevés (Norro et al., 2013). Selon la profondeur, la nature du fond marin et les caractéristiques du site, le type d'éolienne choisie et les techniques de pose employées diffèrent (Figure 8) ainsi donc que les bruits associés. Une éolienne peut être fixée sur le fond par un mono-pieu de diamètre important ou par quatre pieux plus petits nommés '*jackets*'. Elle peut aussi être flottante et arrimée au fond par des points d'ancrage.

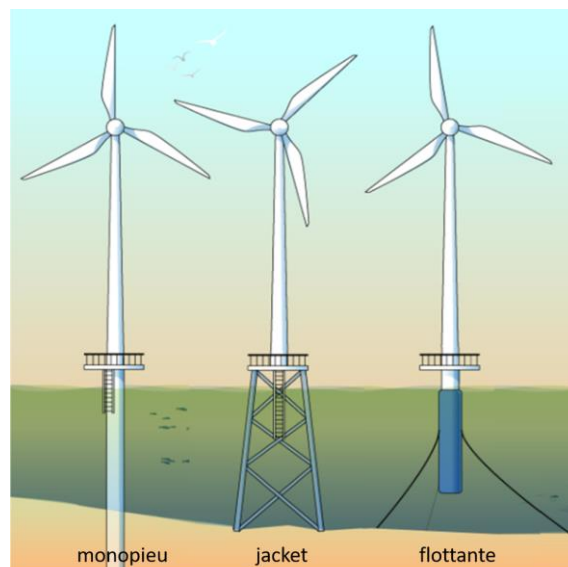
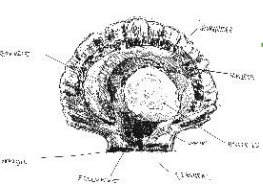


Figure 8 : Les trois types d'éoliennes offshore les plus couramment installées (<https://sciences-en-ligne.net/news/item/148>).

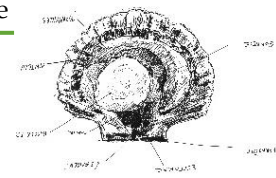
La technique la plus utilisée pour la pose de monopieux de large diamètre est le battage de pieu. Cette technique consiste à enfoncer un pieu dans le sol à l'aide d'un marteau hydraulique (Norro et al., 2013). Cette opération produit, plusieurs dizaines de fois par minute, des sons courts (de l'ordre de quelques millisecondes) et de spectre large bande en dessous de 5 kHz, centré sur 1 kHz, (Bailey et al., 2010; Tougaard et al., 2009). En raison du caractère impulsionnel du battage de pieu, son niveau est mesuré classiquement en crête-crête (SPL_{p-p}) et est d'autant plus élevé que le diamètre du pieu est grand et que l'énergie délivrée par le marteau augmente. Par exemple, Robinson et al. (2013) ont enregistré un niveau SPL_{p-p} de 205 dB re 1 μPa @ 100 m pour un pieu de 14,5 m de diamètre sur un fond à 51,4 m de profondeur. Le niveau sonore à la source peut atteindre jusqu'à 250 dB re 1 μPa @ 1m (Bailey et al., 2010).



Les opérations de forage, plus adaptées à des pieux de petit diamètre comme les jackets ou à l'ancrage d'éoliennes flottantes, consistent aussi à enfoncer un pieu dans le sol mais à l'aide cette fois d'un vibrofonneur. Elles produisent des sons continus, donc mesurés en *root mean square* (SPL_{rms}), dont le niveau est maximal dans la bande de fréquences 60 Hz – 10 kHz (Dahl et al., 2015). Encore une fois, selon le type de sédiment et le diamètre du pieu, les niveaux SPL_{rms} à la source varient entre 184 (Kyhn et al., 2014) et 193.3 dB re μPa @ 1 m (Jimenez-Arranz et al., 2019). Ce sont ces deux sons, le battage et le forage, qui ont fait l'objet de notre étude au cours de cette thèse. Une caractérisation de leurs spectres suit dans le chapitre 1 (Figure 24).

Les fermes éoliennes sont équipées d'un système de transmission de l'électricité. Les éoliennes sont donc reliées entre elles et au continent par un réseau de câbles électriques qui peuvent être suspendus dans la colonne d'eau, posés à la surface du fond marin ou enfouis dans le sédiment. Dans le dernier cas, les câbles sont *ensouillés* dans une tranchée qui peut être creusée par un jet d'eau haute pression (*water-jetting*), une charrue (charruage) ou une scie circulaire (tranchage). Ces travaux produisent eux aussi des sons large bande en dessous de 50 kHz, dont l'énergie est maximale entre 100 et 1000 Hz et avec un niveau à la source de 178 dB re $1 \mu Pa$ @ 1 m (Nedwell et al., 2003). Aux bruits associés à toutes ces opérations s'ajoutent les sons des navires effectuant les travaux décrits précédemment.

De même, toutes les opérations de maintenance induisent la multiplication du nombre d'embarcations sur le site et des nuisances sonores associées. Lors de son fonctionnement, une éolienne ne produit guère plus de bruit qu'une petite embarcation ($SPL_{rms} = 109-127$ dB re $1 \mu Pa$ @ 20m; Tougaard et al., 2009). Un parc de quelques dizaines d'éoliennes produit donc en permanence le niveau de bruit engendré par une route maritime. La rotation des pales et l'aérodynamisme qui en découle produisent un son large bande, essentiellement dépendant de la force du vent. Il existe peu de données sur la pollution sonore entraînée par le démantèlement de ces installations mais on suppose qu'elle sera au maximum équivalente à celle de l'installation, exception faite de l'usage potentiel d'explosifs dont les niveaux sonores ont été décrits plus haut.



II. Le son et les organismes marins

Dans l'océan, le son se propage à toutes les profondeurs et dans les trois dimensions bien plus loin que la lumière ou les particules chimiques. L'ouïe est donc le sens à la portée la plus importante, ce qui en fait une source considérable d'informations pour les animaux marins. Cette partie a pour but dans un premier temps de décrire comment les animaux peuvent percevoir les sons et comment leur sensibilité a été étudiée. Puis sont décrits les divers effets des bruits sur les animaux. Même si l'accent est mis sur les invertébrés qui sont mes modèles d'études, il serait réducteur d'ignorer les mammifères et poissons, dont les performances et sensibilités acoustiques seront donc brièvement évoquées.

II.1. Le sens de l'audition chez les animaux

II.1.1. Les organes de réception chez les vertébrés

Les animaux marins détectent les sons grâce à des systèmes de perception variés et propres à chaque groupe taxonomique. L'appareil auditif des mammifères marins est assez similaire à celui des mammifères terrestres avec une oreille moyenne, une interne, et parfois une externe. Le principe de leur audition repose sur la présence d'une cavité qui amplifie les différences de pression engendrées par l'onde acoustique dans le milieu pour ensuite exciter des cellules ciliées et générer un influx nerveux (Ketten, 1992).

Les mammifères vivant exclusivement dans l'eau, tels que les cétacés, possèdent un système auditif sans oreille externe, tandis que ceux dont le mode de vie est à la fois aquatique et terrestre, comme les pinnipèdes, ont un appareil auditif amphibie comprenant un système de fermeture du canal auditif externe lors de l'immersion (Figure 9).

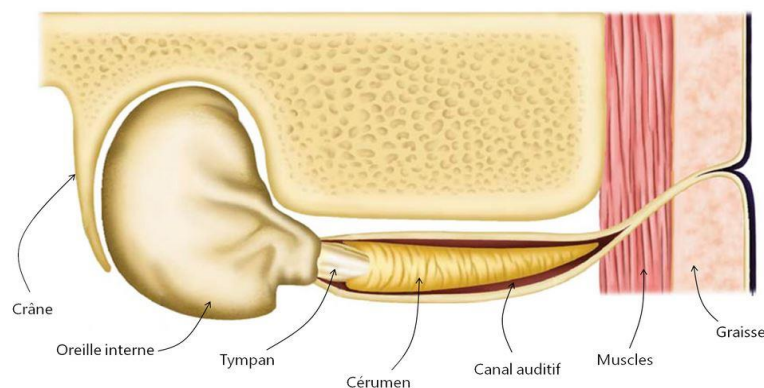
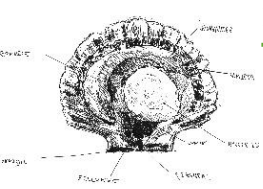


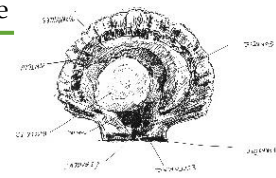
Figure 9 : Représentation schématique du système auditif de la baleine bleue (Trumble et al., 2013).



Le système auditif des poissons présente une grande variété de structures anatomiques (Popper and Fay, 1993, 2011). Une partie d'entre eux possèdent une vessie natatoire remplie de gaz qui sert notamment à maintenir leur position dans la colonne d'eau. Analogue à l'oreille moyenne, cet organe subit la pression sonore et joue le rôle d'amplificateur acoustique (Fay and Popper, 1974). Des otolithes sont présents dans l'oreille interne chez toutes les espèces de poissons. Ce sont des concrétions carbonatées enfermées dans une chambre de cellules ciliées remplie de liquide. Ils permettent à l'animal de maintenir sa position et de s'orienter à la verticale dans la colonne d'eau (Bleckmann, 2004). Lorsque le corps du poisson (dont la densité est proche de celle de l'eau) est traversé par une onde sonore, le mouvement particulaire de proche en proche induit un déplacement des otolithes (plus denses et donc avec une plus grande impédance acoustique) vers les cils sensoriels, déclenchant l'influx nerveux (Bleckmann, 2004). Cet organe est donc sensible à la composante particulaire du son et non aux différences de pression. Enfin, la ligne latérale mécano-sensorielle présente chez certaines espèces est aussi impliquée dans l'audition (Sand, 1981). Elle détecte les mouvements d'eau lors de la nage synchronisée en banc grâce à des neuromastes, cellules ciliées enfermées dans des capsules gélatineuses.

II.1.2. Les organes de réception chez les invertébrés

Les invertébrés ne possèdent pas de cavité remplie de gaz qui leur permettrait d'être sensibles aux différences de pression (Popper et al., 2001). Chez les invertébrés, les organes de détection acoustique ont majoritairement été étudiés chez les céphalopodes et les crustacés. La cuticule des crustacés marins est couverte de poils sensoriels mécanorécepteurs associés à des cellules ciliées. Analogues à la ligne latérale des poissons, ils détectent les mouvements d'eau et donc les mouvements particuliers associés à la transmission du son dans le milieu. Chez les crustacés, des organes chordontaux situés à la base des pattes permettent la détection du son se propageant dans le substrat (Popper et al., 2001). Certains céphalopodes possèdent des cellules épidermiques avec un fonctionnement similaire à la ligne latérale des poissons (Komak et al., 2005; Mooney et al., 2010). Des études ont mis en évidence un organe sensoriel abdominal (ASO) chez les pectinidés (Zhadan, 2005) capable de détecter les vibrations de l'eau et dont l'ablation entraîne une réduction de la sensibilité au son. C'est un organe pair situé à la surface du muscle adducteur et dont la surface est recouverte de cellules



épithéliales ciliées (Figure 10). La littérature décrit des structures similaires sous différents noms chez plusieurs espèces de mollusques bivalves et il est très probable que leur fonction soit identique. La larve de l'huître *Ostrea edulis* développe ce « nouvel organe palléal » juste après sa fixation (Cole, 1938). Enfin, le byssus de *Mytilus edulis* possède des mécanorécepteurs probablement eux aussi sensibles aux vibrations (Lacourse and Northrop, 1978).

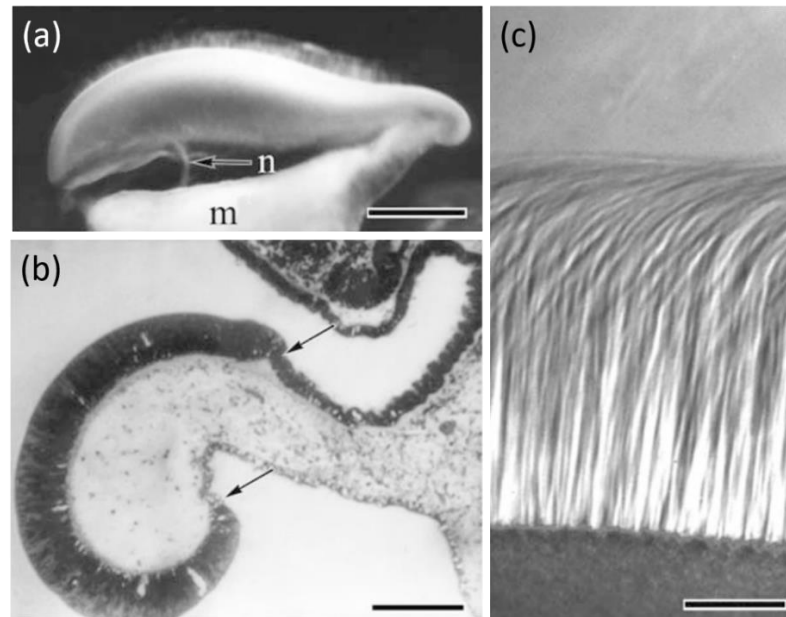
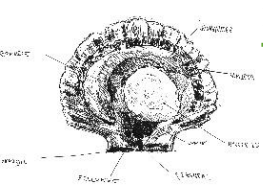


Figure 10 : *Abdominal Sensory Organ* de pétoncle japonais *Mizuchopecten jessoensis* observé en microscopie électronique à balayage. (a) ASO entier attaché à un morceau du manteau 'm' et au nerf sensitif 'n' ; barre d'échelle = 1 mm. (b) Coupe transversale à travers l'ASO les flèches indiquent les limites de l'épithélium sensoriel ; barre d'échelle = 250 μm . (c) Déformation des cils de l'ASO par un écoulement d'eau à une vitesse de 1,5 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$; barre d'échelle = 40 μm .

Le principal organe supposé de l'audition des invertébrés reste le statocyste. Analogue à l'otolithe des poissons, il est composé d'une chambre de cellules ciliées vers l'intérieur contenant un liquide et un ou plusieurs corps denses, les statolithes (Kaifu et al., 2008) (Figure 11). Lorsque l'animal bouge dans l'espace, le statolithe vient courber les cils d'une partie des cellules, fournissant ainsi une information sur la position du corps et son mouvement. À sa fonction de détecteur de l'équilibre s'ajoute la réception des sons (Budelmann, 1992). En effet, de par sa morphologie, cet organe est capable de détecter les mouvements de particules de proche en proche (Nedelec et al., 2016). Lorsqu'un son traverse le corps d'un bivalve, qui a la même densité que l'eau, le mouvement des particules fait se déplacer le corps dense à l'intérieur de la chambre moins vite que le reste



du corps. En effet la densité du statolithe est trois fois supérieure à celle de l'eau, lui conférant une plus grande impédance acoustique. La majorité des invertébrés possèdent des statocystes notamment les céphalopodes (Budelmann and Williamson, 1994), les cnidaires (Singla, 1975), les gastéropodes (Janse, 1982; Stahlschmidt and Wolff, 1972) et les bivalves comme la coquille Saint-Jacques. Chez les bivalves, cet organe est présent dès le stade pédivéligère, à la transition entre la vie pélagique et benthique (Barber and Dilly, 1969; Cragg and Nott, 1997).

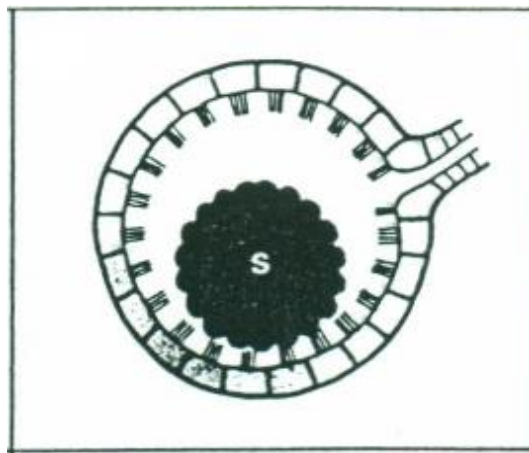
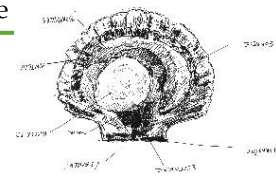


Figure 11 : Schéma d'un statocyste de *Pecten maximus* (Budelmann, 1992), composé d'une chambre de cellules ciliées et d'un statolithe (S).

II.1.3. Méthodes de détermination de l'audition

Les gammes d'audition des mammifères marins, des poissons, des crustacés et des céphalopodes (résumées Figure 13) ont été déterminées grâce à des audiogrammes électrophysiologiques ou comportementaux sur des animaux en captivité. La méthode de production d'un audiogramme est d'émettre des sons à plusieurs fréquences pures et à plusieurs niveaux de puissance jusqu'à identifier le seuil de détection de l'individu. Les tests psychométriques s'appuient sur l'observation de réactions d'évitement ou sur l'apprentissage. La capacité d'apprentissage des céphalopodes a permis de détecter très tôt leur seuil d'audition par le conditionnement (Packard et al., 1990), dont le principe est d'associer un son à un autre stimulus entraînant une réponse motrice de l'animal. Ce stimulus peut être par exemple l'introduction de nourriture ou un léger choc électrique (Packard et al., 1990). Certains changements de comportement peuvent aussi indiquer la perception du son sans besoin d'apprentissage. Par exemple la seiche *Sepia officinalis* émet un jet d'encre en réponse à un son (Samson et al., 2014). D'autre part, des méthodes



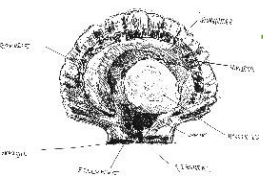
invasives mesurent la tension électrique directement au niveau du nerf auditif, produite lorsque le système auditif est excité par une émission sonore (*'auditory evoked potentials'* ; Jézéquel et al., 2021; Mooney et al., 2010). Ces expériences permettent de tester les capacités physiques de l'organe de réception au son en s'affranchissant des méthodes complexes associées à l'éthologie². L'estimation de la gamme d'audition d'une espèce doit prendre en compte le sexe et l'âge de l'individu. En effet de nombreuses espèces de mammifères marins perdent une partie de leurs capacités auditives en vieillissant (Ketten, 1992) et il pourrait en être de même chez les invertébrés.

Chez les bivalves, d'autres techniques ont été mises en place. La valvométrie et l'accélérométrie sont des techniques non invasives qui permettent d'enregistrer en continu les mouvements d'un animal pour en déduire des comportements types. Il s'avère que chez l'huître *Magallana gigas*, le son provoque une fermeture des valves, ce qui a permis de déterminer ses capacités d'audition en terme de fréquences et de niveau sonore (Charifi et al., 2017; Roberts et al., 2015). La valvométrie permet aussi de détecter des réponses comportementales au son chez *Pecten maximus* (Figure 12) (Retailleau et al. données non publiées). L'acoustique passive, elle aussi non invasive, permet de reconnaître le son stéréotypé d'une fermeture valvaire de coquille Saint-Jacques. Couplée à la valvométrie, elle a permis de mettre en évidence le comportement de stress de *P. maximus* en réponse à une algue toxique (Coquereau et al., 2016). Kastelein (2008) utilise le mouvement du siphon comme indicateur de réception du son chez la coque *Cerastoderma edule* par analyse vidéo.



Figure 12 : Coquille Saint-Jacques équipée d'un accéléromètre/valvomètre.

² Ethologie : science du comportement animal.



Les gammes d'audition des larves de poissons ou d'invertébrés (résumées Figure 13) sont le plus souvent approchées par la détection d'un effet sur des processus biologiques, traduits par une réponse physiologique ou comportementale. Peuvent donc être quantifiés la mortalité ou des phénomènes propres au développement comme la croissance ou la métamorphose (Jolivet et al., 2016). On peut par la même mesurer le rythme cardiaque de certains embryons de poissons (Jain-Schlaepfer et al., 2018) ou le comportement des larves (Lillis et al., 2016).

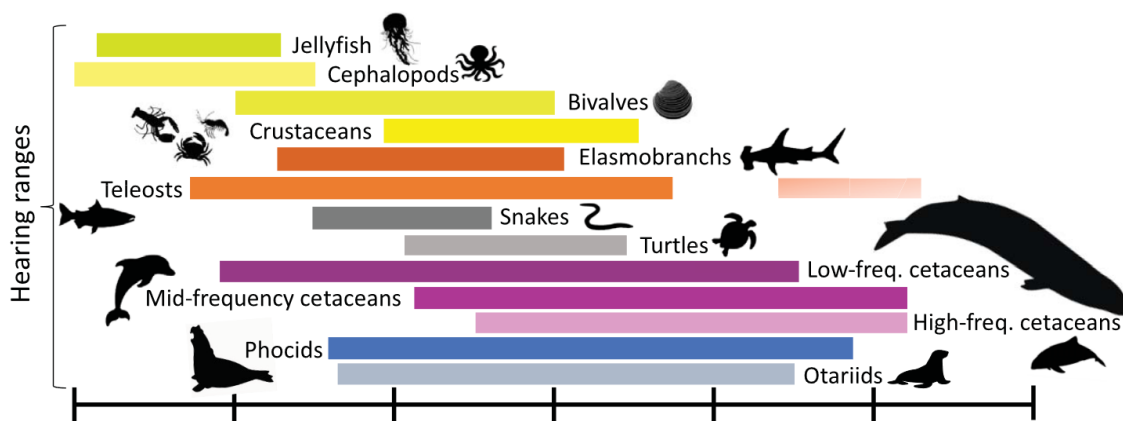
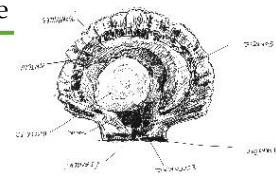


Figure 13 : Gammes d'audition des animaux marins en fonction du taxon (Duarte et al., 2021).

II.2. Impact des sons anthropiques sur les invertébrés

La production de nouvelles connaissances dans le domaine de la bioacoustique marine suit une croissance exponentielle depuis les années 2000 (Duarte et al., 2021) (Figure 14). Les premiers articles décrivant les effets du son sur les invertébrés ont été publiés à la même époque que les premières études acoustiques sur les mammifères. Il aura pourtant nécessité trente ans pour que les invertébrés regagnent l'intérêt de la communauté scientifique. En effet, 77% des études d'impact acoustique sur des modèles invertébrés ont moins de 10 ans (Wale et al., 2021).

Nombreux sont les articles qui résument les effets des sons anthropiques sur les mammifères marins (Erbe et al., 2016; Weilgart, 2007) : le son peut entraîner des comportements d'évitement, détourner de leur route migratoire des populations entières ou les déplacer loin de leur site d'alimentation ou de reproduction de prédilection. Le son anthropique peut masquer la communication, poussant les mammifères à modifier leurs échanges (Lesage et al., 1999) ou parfois induisant leur silence (Watkins, 1986). Ces



effets diminuent la cohésion de groupe ou perturbent la rencontre entre des partenaires sexuels (Croll et al., 2002). A de hauts niveaux, le son peut provoquer des atteintes physiques dont la dégradation des organes auditifs et la perte temporaire ou permanente de l'audition (Finneran et al., 2002). La privation de ce sens principal peut perturber l'orientation et provoquer des échouages massifs (Cox et al., 2006). Chez les invertébrés aussi, les fonctions associées au son sont multiples et la perturbation de l'audition peut avoir des effets dramatiques à l'échelle de l'individu et de la population. On peut en distinguer plusieurs types : des dégâts physiques tels que la destruction partielle du système auditif, des effets comportementaux ou physiologiques.

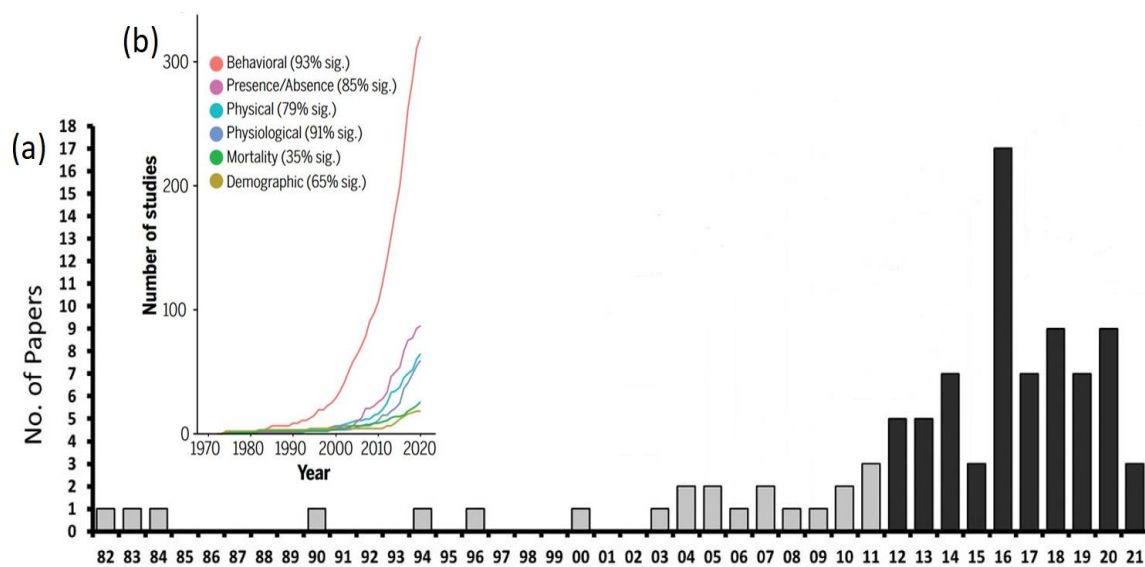
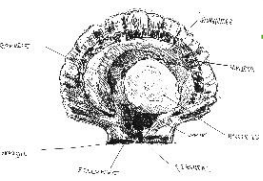


Figure 14 : Evolution du nombre d'articles concernant les études d'impact acoustique sur les invertébrés (a), comparée à l'augmentation des études sur tous les taxons (b) (Duarte et al., 2021; Wale et al., 2021).

II.2.1. Lésions physiques

Le son peut provoquer des lésions du système auditif : André et al. (2011) ont observé d'importantes lésions des cellules ciliées des statocystes de quatre espèces de céphalopodes (*Loligo vulgaris*, *Sepia officinalis*, *Octopus vulgaris* et *Illex coindetii*) exposées à un son basse fréquence (50-400 Hz) (Figure 15) pouvant être associé à la prospection géophysique pendant seulement 2h ($SPL_{peak} = 175$ dB re 1 μ Pa). Plusieurs études ont prouvé que l'exploration sismique est à l'origine de barotraumatismes importants chez les céphalopodes, touchant les statocystes mais aussi les muscles internes et les voies digestives, avec comme conséquence la mort des individus (Guerra et al.,



2011). Chez les cnidaires aussi, l'exposition à des *sweep*³ basse fréquence similaires à ceux des sonars entraîne de sévères dommages au niveau de l'épithélium des statocystes, à l'exemple des méduses *Cotylorhiza tuberculata* et *Rhizostoma pulmo* (Solé et al., 2016). Du fait des rôles biologiques des statocystes, ces lésions peuvent avoir des effets sur la perception du son (perte momentanée ou permanente de l'audition, modification du seuil de l'audition de l'individu) mais aussi sur l'orientation, provoquant des échouages massifs (Guerra et al., 2011).

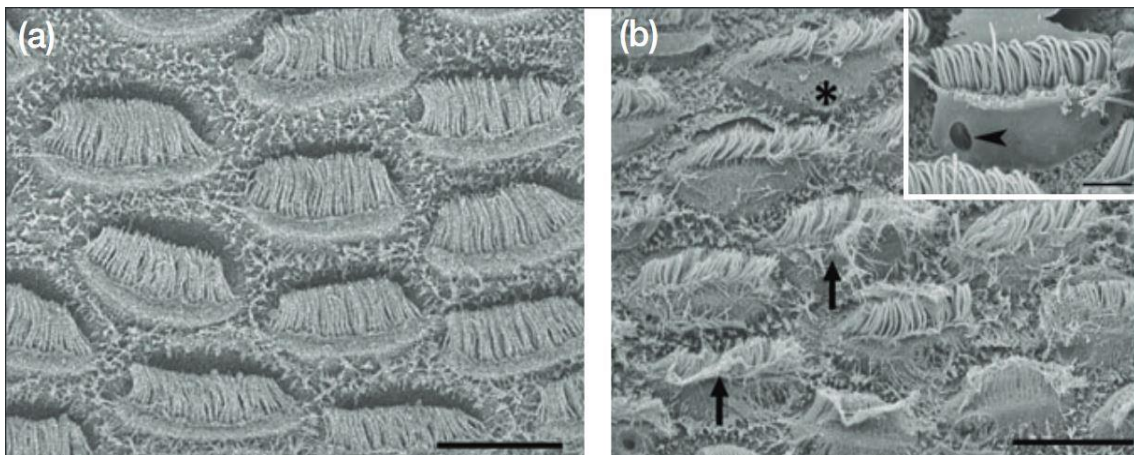
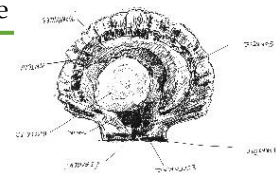


Figure 15 : Epithéliums de statocystes de seiches *Sepia officinalis* en microscopie électronique à balayage. (a) épithélium normal, (b) épithélium après exposition de 2h à un 'sweep' de 50 à 400 Hz avec ses cellules ciliées courbées et désorganisées (André et al., 2011).

II.2.2. Modifications comportementales

Les effets les plus visibles du bruit sur les animaux sont les modifications comportementales et les céphalopodes ont été largement étudiés pour leur réponse aux bruits anthropiques. Le calmar *Doryteuthis pealeii* réagit aux bruits de battage de pieu par des comportements habituellement typiques de fuite (Jones et al., 2020). Exposés à de véritables air-guns, les calmars changent de type de nage et agressent leurs congénères (Fewtrell and McCauley, 2012). En réponse au bruit de bateau, la seiche *Sepia officinalis* change de couleur et lève ses bras (Kunc et al., 2014). En plus de ces comportements de défense, des réactions d'hébétement et d'immobilité persistante sont aussi observées (Solé et al., 2013). Cette sidération peut avoir de lourdes répercussions sur la survie en milieu naturel de l'individu exposé à la prédation. De même, le battage de pieu réduit

³ Un *sweep* est un son pur dont la fréquence augmente progressivement dans un intervalle, généralement en restant de niveau constant

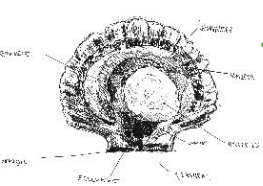


potentiellement la *fitness*⁴ du calamar *D. pealeii* car il perturbe son comportement de chasse et diminue le nombre de prises (Jones et al., 2021).

Les crustacés répondent également aux sons anthropiques par des réactions de stress, tels que des comportements de cannibalisme chez la crevette *Crangon Crangon* en réponse aux conditions d'élevage bruyantes liées à l'utilisation de pompes (Lagardère, 1982). Le bruit de bateau peut être interprété comme étant l'approche d'un prédateur, réduisant le temps investi par le Bernard l'Hermite *Pagurus bernhardus* dans le choix d'une nouvelle coquille (Tidau and Briffa, 2019). Cet empressement dans le choix vital qu'est celui de son abri peut avoir des conséquences dramatiques sur le succès reproducteur et la survie de l'animal. Le bruit de bateau modifie le comportement alimentaire du crabe *Carcinus maenas*, sa rapidité à rejoindre un abri et sa capacité à se retourner (Wale et al., 2013b), suggérant un changement de réaction en cas de rencontre avec un prédateur. Chez la langoustine *Nephrops norvegicus*, une pollution sonore dont le contenu fréquentiel est comparable à celui du trafic maritime diminue les comportements essentiels que sont l'enfouissement, la bio-irrigation et les déplacements (Solan et al., 2016).

Chez les bivalves, les réactions au bruit se traduisent souvent par une modification de l'ouverture valvaire. Par exemple, la moule *M. edulis* ferme partiellement ses valves en réponse à des impulsions artificielles émises dans la gamme des basses fréquences (Hubert et al., 2022) ou aux vibrations du sédiment causées par des signaux tonaux de basse fréquence (Roberts et al., 2015), modifiant mécaniquement son taux de filtration et son métabolisme (Voir section II.2.3). Soumise à un son mimant le passage de bateaux en laboratoire, la palourde japonaise *Ruditapes philippinarum* se déplace au-dessus du sédiment et ferme ses valves : des comportements que Solan et al. (2016) associent au stress. A l'inverse, *Pecten fumatus* rétracte son velum et s'enfouit plus profondément dans le sédiment (Day et al., 2017) quand il est exposé à des signaux d'exploration sismique dans le milieu naturel. Chez le couteau *Sinonovacula constricta*, l'augmentation de l'activité d'enfouissement face à des sons artificiels est liée à une modification de l'activité de l'enzyme $\text{Ca}^{2+} / \text{Mg}^{2+}$ ATPase dans le pied attestant d'une augmentation de

⁴ La *fitness* d'un individu peut être appelée « valeur sélective ». Elle désigne sa capacité à diffuser ses gènes, donc à survivre dans un environnement donné et à se reproduire.

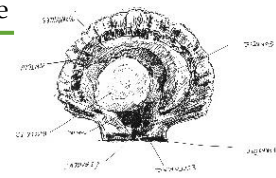


la contraction musculaire (Peng et al., 2016). Ceci met en lumière que toute modification comportementale peut avoir des répercussions au niveau physiologique.

II.2.3. Effets physiologiques

Le stress induit par les bruits anthropiques se traduit aussi au niveau physiologique. Par exemple chez les céphalopodes, l'exposition à des sons mono-fréquence en laboratoire interrompt le rythme respiratoire de la seiche et du poulpe (Packard et al., 1990). Parmi les crustacés, le métabolisme de la crevette *Crangon crangon* augmente en élevage bruyant (Regnault and Lagardere, 1983) et celui du crabe *Carcinu maenas* est amplifié par le bruit de bateau (Wale et al., 2013a), ce qui se traduit par une augmentation de la consommation en oxygène. Chez *C. crangon*, la conséquence est une réduction de sa croissance et de ses performances reproductives (Lagardère, 1982). D'importants taux de phénoloxydases, système de défense immunitaire d'habitude relié à une réponse au stress, ont été relevés chez des langoustes *Palinurus elephas* soumises à des bruits de bateaux (Celi et al., 2015). Au niveau métabolique, le stress acoustique engendre une surexpression des protéines de réponse au stress (HSP70) de la langouste *P. elephas* (Filiciotto et al., 2014), de l'oursin *Arbacia lixula* (Vazzana et al., 2020) et de la moule *Mytilus galloprovincialis* (Vazzana et al., 2016). Les détonations de canons à air entraînent également la surexpression d'autres gènes pour le moment inconnus chez le copépode *Calanus finmarchicus* (Fields et al., 2019). La modification de l'ouverture valvaire vue précédemment a des conséquences directes sur la physiologie des bivalves. La fermeture valvaire conduit à la réduction du taux de filtration et donc à une réduction de la croissance chez *Magallana gigas* (Charifi et al., 2018) et à une diminution de la consommation d'oxygène chez *M. edulis* (Wale et al., 2019). Mais à l'inverse, pour compenser le stress engendré par le battage de pieu, *M. edulis* peut aussi augmenter son taux de filtration (Spiga et al., 2016).

L'exposition à des bruits artificiels générés en laboratoire modifie de nombreuses voies métaboliques comme l'activité enzymatique, cytotoxique et glycolytique chez *M. galloprovincialis* (Vazzana et al., 2020; Vazzana et al., 2016). Une réduction du nombre de cellules sanguines a aussi été observée chez *M. edulis*, (Vazzana et al., 2016; Wale et al., 2019) et chez *P. fumatus* (Day et al., 2017) conduisant à une réduction de l'immunité et de l'homéostasie. L'expression des gènes liés à ces voies métaboliques essentielles est



modifiée chez le couteau *Sinonovacula constricta* par des bruits générés dans les basses fréquences (Peng et al., 2016) ou encore chez *M. gigas* exposée au bruit de cargo (Charifi et al., 2018). Il a été montré chez *M. edulis* que le stress oxydatif engendré par le son modifie également l'intégrité de son ADN.

Il est important de notifier que ces trois types d'impacts du stress acoustique (physiques, comportementaux et physiologiques) sont interconnectés (Figure 16) car les fonctions biologiques d'un organisme dépendent les unes des autres. L'observation de l'un ou l'autre de ces paramètres correspond à plusieurs niveaux de réponse.

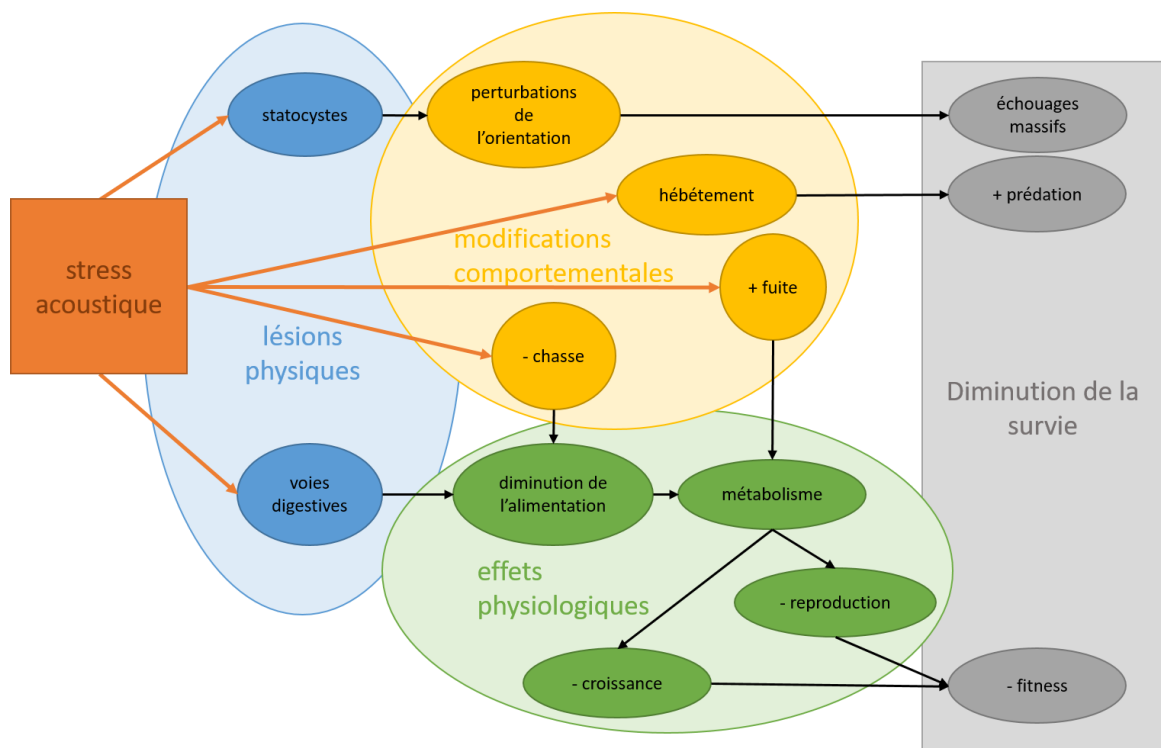
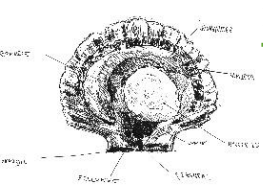


Figure 16 : Représentation schématique des interactions entre les effets physiques (bleu), comportementaux (jaune) et physiologiques (vert) du stress acoustique, illustrées sur les céphalopodes.

II.2.4. Phénomène d'habituation

La réponse au bruit varie selon de multiples paramètres dont l'espèce et la nature du signal acoustique mais pas seulement. Chez les mammifères, les capacités auditives d'un individu diminuent avec l'âge, ce qui introduit une variabilité supplémentaire dans les études d'impact. Un individu plus âgé pourra être moins sensible à la prédation ou avoir un comportement de fuite moins marqué (Komak et al., 2005).

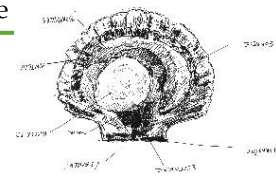


La sensibilité aux sons anthropiques dépend aussi de l'expérience précédemment vécue par l'individu à leur égard. Des phénomènes de tolérance à court terme ont déjà été décrits notamment chez le calamar *Doryteuthis pealii* dont la réaction d'alarme au battage de pieu et aux canons à air diminue au fil des impulsions (Fewtrell and McCauley, 2012; Jones et al., 2020) ou encore chez *M. edulis* (Hubert et al., 2022). La réponse peut s'atténuer rapidement, comme le réflexe d'enfouissement de *P. fumatus* qui diminue à mesure que l'exposition se prolonge, probablement par fatigue du muscle (Day et al., 2017). L'accoutumance peut enfin se prolonger sur plusieurs semaines comme pour les juvéniles du poisson *Dascyllus trimaculatus* exposés à un bruit de bateau (Nedelec et al., 2016).

II.2.5. Effets sur les stades larvaires

Tous taxons confondus, la surveillance sismique peut multiplier par deux ou trois la mortalité des adultes et des larves composant le zooplancton (McCauley et al., 2017). Pour de nombreux taxons, les stades larvaires sont des stades sensibles et sur lesquels les bruits sous-marins peuvent avoir des effets plus importants. Le rythme cardiaque des embryons des poissons *Amphiprion* (Simpson et al., 2005) et *Amblyglyphidodon curacao* (Jain-Schlaepfer et al., 2018) s'accélère en présence de bruits anthropiques. Les impulsions sismiques peuvent même entraîner la mort de larves de truite *Salvelinus namaycush* (Cox et al., 2012) ou de l'aplysie *Stylocheilus striatus* (Nedelec et al., 2014). Le bruit nuit au développement des stades jeunes, induisant des retards ou des malformations chez les larves de *Pecten novaezelandiae* (Aguilar de Soto et al., 2013).

La raison écologique pour laquelle les larves seraient sensibles au son est que les larves intègreraient le paysage acoustique dans le choix d'un lieu de fixation propice au développement. La larve pourrait choisir son lieu de fixation primaire en fonction de ses caractéristiques acoustiques (Simpson et al., 2005). En effet, les larves du corail *Montastraea faveolata* sont attirées par les sons de récif, produits essentiellement par les poissons et les crustacés qui y vivent (Vermeij et al., 2010). De même, l'exposition à un enregistrement de son de récif augmente la fixation des larves de coraux *Orbicella faveolata* (Lillis et al., 2016).



Les bruits anthropiques modifient le comportement de fixation des larves, qui est un moment clé du développement. Ici encore, les effets dépendent largement du type de son et de l'espèce. L'exposition au bruit de bateau perturbe le choix du lieu de fixation des larves planula de *Pocillopora damicornis* et *Acropora cytherea* (Lecchini et al., 2018). L'exposition à un son basse fréquence inhibe drastiquement la fixation des larves de *Balanus amphitrite* et retarde leur métamorphose (Branscomb and Rittschof, 1984). À l'inverse, les sons anthropiques semblent favoriser la fixation de *M. edulis* (Jolivet et al., 2016) et de *Perna canaliculus* (Wilkins et al., 2012). L'attraction au son semble spécifique à l'espèce et calibrée à l'environnement le plus favorable à son développement. Par exemple les larves d'huitres et de palourdes ne répondent pas de la même façon à un son de récif habité par des huitres (Eggleston et al., 2016).

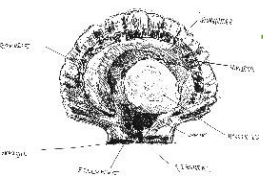
III. Contexte et objectifs de la thèse

III.1. Les bruits associés à l'implantation d'éoliennes

Depuis l'ère industrielle, les activités maritimes humaines ne cessent de croître et introduisent des sons de basses fréquences (en dessous de 1 kHz) qui se propagent loin dans le milieu marin grâce à une perte d'énergie réduite. De plus, l'acidification des océans en lien avec le réchauffement climatique modifie les propriétés acoustiques du milieu et diminue l'absorption acoustique. La propagation des sons anthropiques dans le milieu marin devrait donc s'amplifier dans les décennies à venir (Brewer and Hester, 2009), augmentant de ce fait leur portée. A l'échelle mondiale, le trafic maritime est la première source de bruit anthropique et a été multiplié par 4 entre 1992 et 2012 (Tournadre, 2014). Les bruits de bateaux ont donc été largement étudiés, tant pour leur caractérisation que pour leur répartition. L'émergence massive et rapide des énergies marines renouvelables (EMRs) introduit une nouvelle pollution sonore qu'il convient également d'étudier.

III.1.1. Eolien offshore : remède à l'urgence climatique ?

L'Homme du 21^e siècle doit freiner le réchauffement exponentiel du climat. Pour cela, il est crucial de restreindre drastiquement les émissions de gaz à effet de serre dans l'atmosphère terrestre. L'industrie, l'utilisation d'engrais azotés, l'élevage intensif de bovins et l'utilisation de gaz fluorés sont des facteurs considérables de relargage tandis



que la déforestation massive empêche la régulation du cycle du carbone. Mais la principale source d'émission est la production d'énergie par combustion du charbon, du pétrole et du gaz (68% des émissions de gaz à effet de serre en 2020, EDGAR Global Carbon Project). Ces énergies fossiles de plus en plus rares sont utilisées à 42% pour la production d'électricité. L'augmentation constante de nos besoins énergétiques rend d'autant plus cruciale la production d'électricité par des énergies renouvelables. Depuis les accords de Paris de 2015, ratifiés aujourd'hui par 183 pays (<https://unfccc.int/fr/node/513> consulté le 03/06/2022), les états se sont engagés à plafonner leurs émissions de gaz à effet de serre afin de contenir l'élévation des températures en dessous de 2°C par rapport à l'ère pré-industrielle. Le scénario de « *Net Zero Emissions by 2050* » (NZE ; Figure 17) prôné par le GIEC repose en grande partie sur une modification de l'utilisation d'énergie et pour l'atteindre, la production électrique renouvelable doit progresser rapidement.

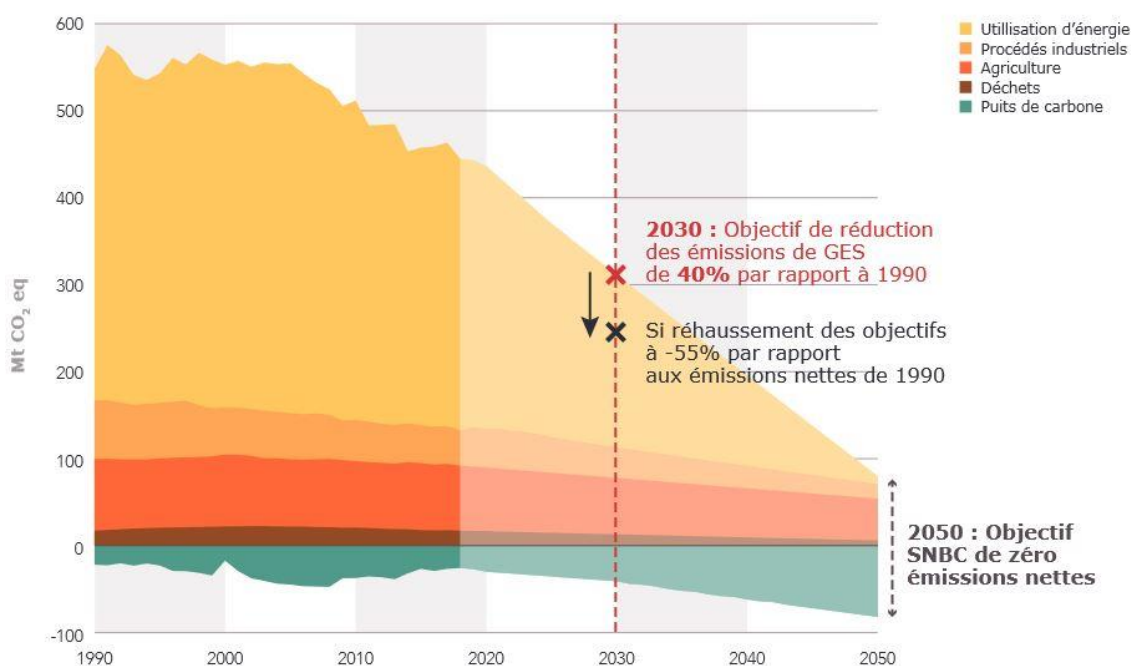
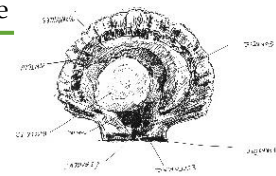
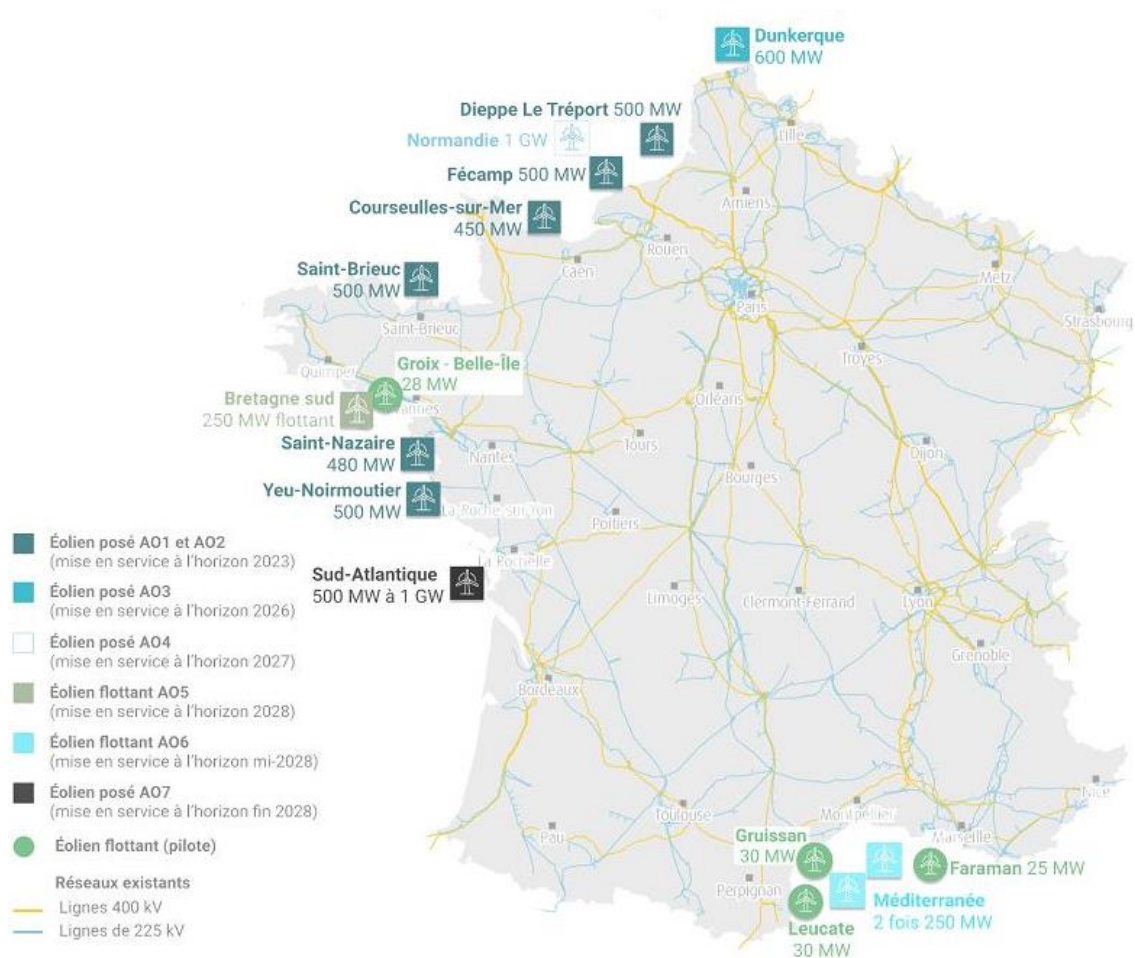


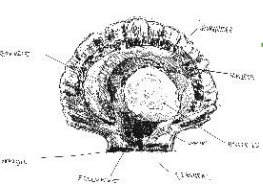
Figure 17 : Evolution et prévisions des émissions et puits de gaz à effet de serre pour atteindre l'objectif de « Net Zero Emissions » d'ici 2050 (source SNBC).



L'éolien offshore semble être une source d'énergie crédible pour atteindre les objectifs de la transition écologique. Les éoliennes promettent de meilleures performances en mer, où les vents sont plus puissants et constants, déployant un facteur de charge⁵ de 51% contre les 29% offerts par leurs homologues terrestres (*World Energy Outlook*, 2021). Le nombre et la taille des parcs éoliens sont donc en constante augmentation (+22% en 2021) et la capacité mondiale de l'éolien pourrait être multipliée par 7 d'ici 2030 (*Global Offshore Wind Report 2021*). La France tend à rattraper son retard au niveau européen et a entrepris seize projets de parcs éoliens (Figure 18) dont le premier a déjà été mis en service à St-Nazaire.



⁵ Le facteur de charge d'une éolienne est le ratio entre l'énergie qu'elle produit sur une période donnée et l'énergie qu'elle aurait produite durant cette période si elle avait constamment fonctionné à puissance maximale.



III.1.2. Nuisances associées aux éoliennes dans le milieu marin

L'éolien offshore offre de plus vastes aires d'installation dans un contexte de faible disponibilité terrestre. Cependant, certains projets se heurtent à la réticence de l'opinion publique qui craint des répercussions visuelles, environnementales et économiques. Leurs zones d'implantation recoupent souvent des zones de pêche, entraînant des conflits d'usage. Ainsi le projet de parc éolien de St-Brieuc soulève notamment la colère des pêcheurs coquilliers soucieux de préserver le gisement de coquilles Saint-Jacques sur lequel s'implantera le parc (Figure 19). Si le danger de la pollution sonore est aujourd'hui reconnue d'intérêt public, les études sont encore insuffisantes pour mettre en place des régulations efficaces.

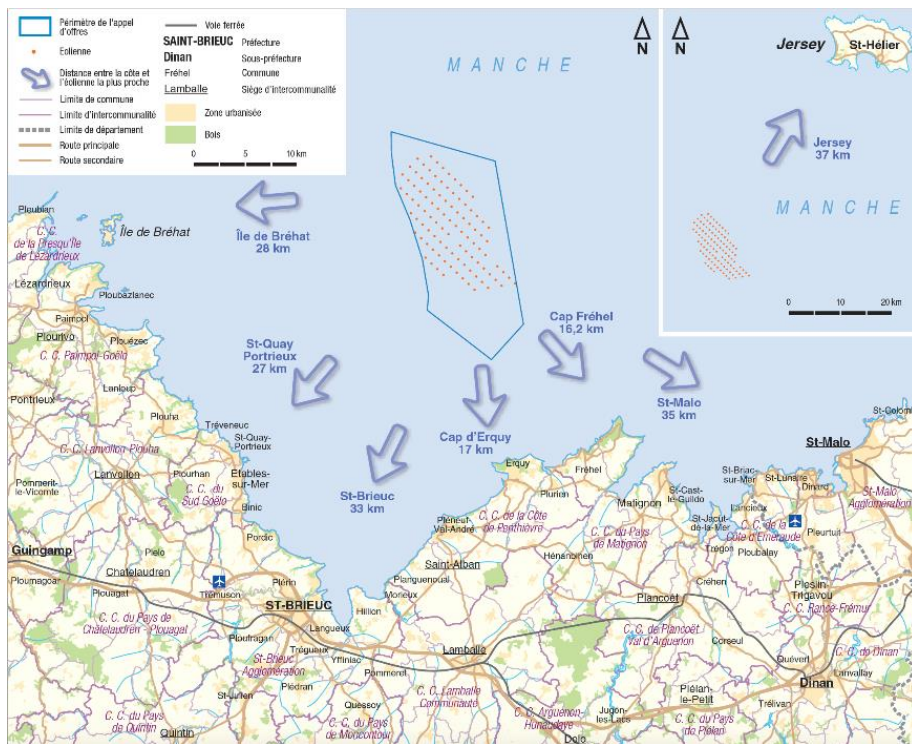
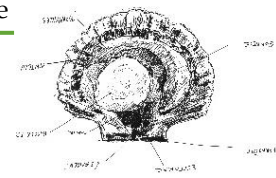


Figure 19 : Carte d'implantation sur 75 km du parc éolien de Saint-Brieuc (Ailes Marines).

Les chantiers éoliens altèrent massivement les paysages acoustiques naturels (Chapman and Price, 2011; McKenna et al., 2012). La pollution sonore associée à leur installation et à leur démantèlement est importante et dure quelques mois ou années. L'émission sonore liée à l'exploitation est d'amplitude très modérée mais dure plusieurs dizaines d'années. Nous avons choisi de centrer notre étude sur la phase d'installation car elle émet des niveaux sonores inédits dans ces zones tandis que la phase d'exploitation est comparable au trafic maritime déjà présent sur site. Les fermes éoliennes s'implantent le plus souvent dans des zones côtières (en moyenne à 59 km des côtes) (*Offshore Wind*



in Europe, 2019), d'ores et déjà soumises à de nombreuses pressions anthropiques (pêche, rejets, pollution lumineuse, installations aquacoles...). Ces zones possèdent une forte biodiversité, ce qui rend d'autant plus nécessaires les études d'impacts sur la faune marine.

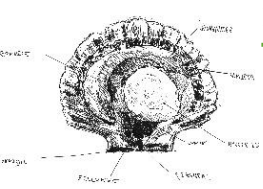
III.2. Choix des modèles biologiques

III.2.1. Pourquoi étudier les invertébrés ?

Les études d'impact acoustique ont commencé chez les invertébrés en même temps que chez les autres taxons (Lagardère, 1982) mais ont été, depuis, bien moins largement menées que celles sur les poissons ou les mammifères (Wale et al., 2021). Même au sein de poissons d'un même environnement et avec le même mode de développement, les réponses sont diverses et dépendent de la fréquence. Simpson et al. (2008) ont montré que la plupart des larves de poissons de récifs coralliens sont attirées préférentiellement par les hautes fréquences mais que certaines de leurs homologues ne montrent pas de préférence fréquentielle. Les invertébrés regroupent une large diversité de morphologies, de milieux et de cycles de vie : les impacts du bruit sont donc potentiellement tout aussi divers. Certaines espèces de poissons et de mammifères évitent les sources sonores, ce qui génère un déplacement momentané de la population (Handegard, 2003). Les invertébrés ne sont en général pas capables de fuir une zone d'exposition aussi étendue qu'un chantier éolien et sa zone d'impact sonore. Par exemple, la majorité des céphalopodes sont des animaux territoriaux et les bivalves vivent fixés ou possèdent des capacités de déplacement limitées.

Les bivalves occupent une position basale dans les écosystèmes côtiers en tant qu'espèces ingénieurs⁶ et assurent le lien entre la production de phytoplancton et le compartiment benthique (Bridier et al., 2021; Prins et al., 1998). En filtrant la matière organique en suspension dans l'eau ils en améliorent la qualité : ils réduisent la turbidité, augmentent la disponibilité lumineuse et filtrent les bactéries et les virus (Shumway et al., 2003). Ils sont essentiels pour maintenir une concentration en oxygène suffisante dans

⁶ Les espèces ingénieurs, ou ingénieurs écologiques, modifient activement leur environnement et modulent la biodisponibilité des ressources primaires.



le sédiment (Solan et al., 2004). Les bivalves sont aussi une importante ressource alimentaire et donc économique (Dame and Olenin, 2005; McKindsey et al., 2011).

Mes deux espèces d'étude, la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* et la praire *Venus verrucosa* sont deux bivalves d'intérêt économique répartis sur les côtes françaises. Vivant sur des fonds sableux et dans la zone côtière, leur d'habitat recoupe les zones d'implantation des parcs éoliens. Toutes deux sont des espèces benthiques mais *P. maximus* est épigée et vit au-dessus du sédiment tandis que *V. verrucosa* est un animal endogé, vivant enfoui à environ 2 cm dans le sédiment. La comparaison de l'impact acoustique sur ces deux espèces permet d'étudier une potentielle réponse spécifique. J'ai également choisi ces deux espèces pour des raisons techniques, leur élevage larvaire étant connu et maîtrisé. Au regard de l'expertise à développer pour mettre en place le protocole d'élevage larvaire d'une espèce, cette maîtrise fut un gain de temps considérable.

III.2.2. Pourquoi étudier les larves ?

La stratégie de reproduction des invertébrés est basée sur la production d'une grande quantité de descendants dont peu se développent jusqu'au stade adulte. Les facteurs qui modulent le comportement d'alimentation ou d'évitement de la prédation et donc directement la survie des stades jeunes, ont un impact conséquent sur la dynamique d'une population et la structure de la communauté (Armsworth, 2002).

La réponse au sein d'un même stade de vie peut être dépendante de l'âge. Par exemple les plus gros crabes *Carcinus maenas* montrent une plus forte réponse au son que les petits individus (Wale et al., 2013a). Chez les poissons de récif *Amphiprion ephippium* et *A. rubrocinctus*, la sensibilité aux différentes fréquences varie selon le jour de développement (Simpson et al., 2005). Les différents stades ontogéniques de l'œuf à l'adulte, en passant par tous les stades larvaires, peuvent donc être impactés différemment. Il est alors important de déterminer quels sont les stades sensibles et à partir de quel stade le son peut avoir un impact sur la valeur sélective/*fitness* de l'espèce, par exemple pour mettre en place des limitations des émissions sonores pendant les périodes de ponte ou de développement des juvéniles.

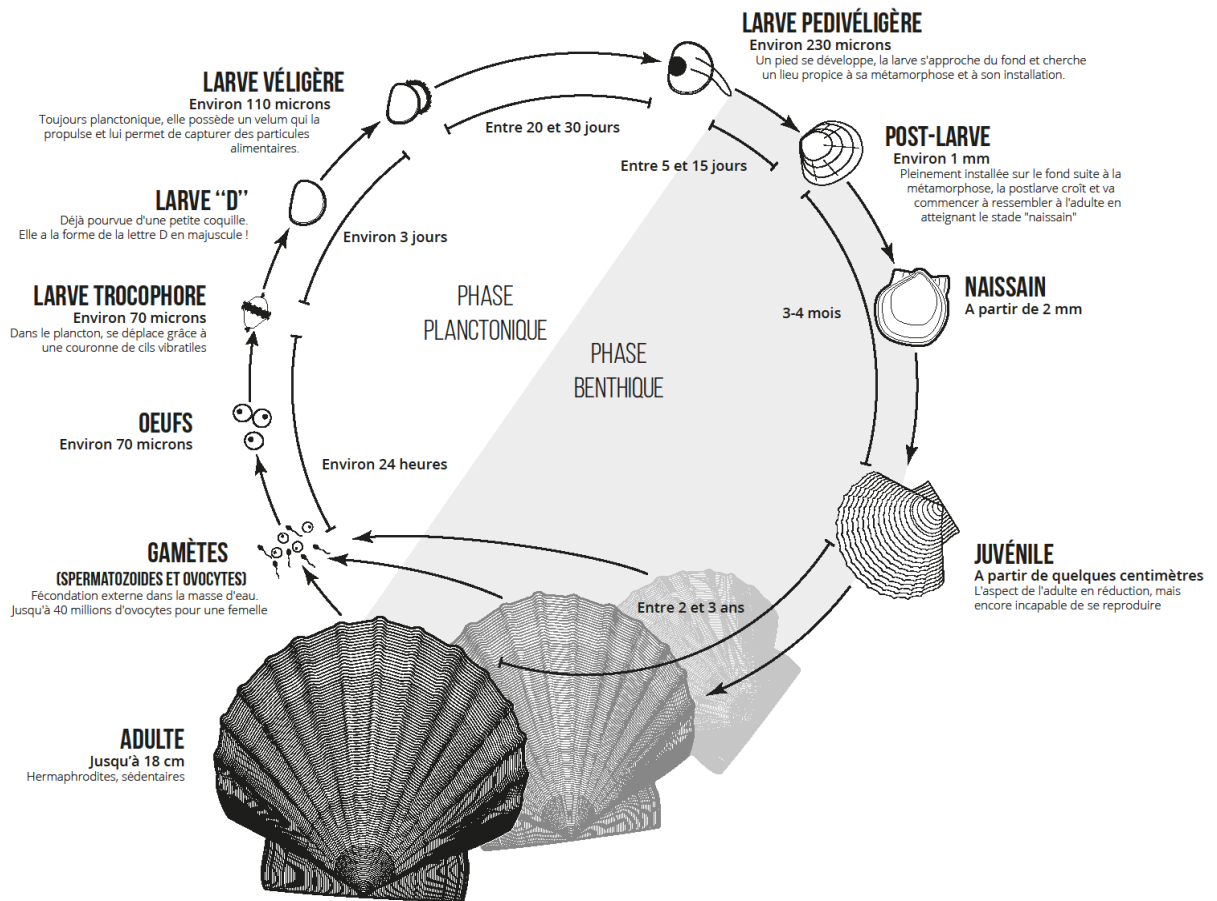
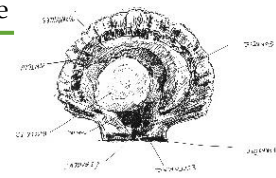
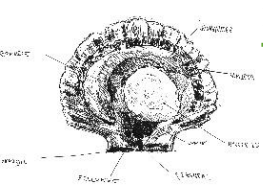


Figure 20 : Cycle de vie de la coquille Saint-Jacques, par Sébastien Hervé.

Les deux espèces modèle ont un cycle de vie benthopélagique (illustré sur la Figure 20 pour la coquille Saint-Jacques) comme 70% des espèces des zones côtières tempérées (Thorson, 1970). Les premières semaines suivant la fécondation, les larves nagent dans la colonne d'eau et constituent une composante du plancton, le méroplancton. Au stade pédivéligère, les larves dites compétentes acquièrent la possibilité de choisir un endroit où se fixer et entamer leur métamorphose (Pechenik and Heyman, 1987). Ce stade particulier est très étudié en écologie car il est déterminant pour le succès du recrutement larvaire et pour le renouvellement de la population (Jenkins et al., 2009). Le choix de l'habitat optimal, duquel découlent directement les chances de survie aux stades suivants, intègre de nombreux facteurs agissant à courte ou longue distance. La larve pédivéligère possède un pied qui lui permet de prospecter directement sur le sol (Bayne, 1965) et de choisir un substrat selon sa texture (Le Tourneux and Bourget, 1988), la présence d'un biofilm de bactéries, micro-algues et détritiques (Hudon and Bourget, 1981; Toupoint et al., 2012) ou encore l'hydrodynamisme de fond (Tremblay et al., 2020). Les molécules



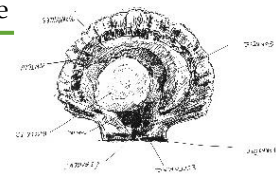
chimiques présentes à la surface du substrat sont déterminantes car elles peuvent être des marqueurs de présence de congénères adultes (Knight-Jones, 1951). La qualité trophique du milieu, en terme de quantité mais aussi d'espèces de microalgues présentes, est un paramètre déterminant dans l'induction de la fixation (Jolivet et al., 2016). Les larves intègrent également des paramètres physiques tels que la température (Rayssac et al., 2010b). Quelques études larvaires démontrent l'importance des effets des vibrations du substrat (Branscomb and Rittschof, 1984) et du son sur les larves de bivalves (Eggleston et al., 2016; Jolivet et al., 2016; Wilkens et al., 2012). De récentes études posent l'hypothèse que le son pourrait renseigner l'individu sur les caractéristiques physiques et biotiques du milieu pour permettre aux larves de choisir un milieu satisfaisant (Lillis et al., 2016). Comme cité plus haut, les effets peuvent être très variables d'un stade à l'autre (Simpson et al., 2005). Si mon étude est centrée sur la métamorphose et sur le stade pédivéligère associé, elle n'oublie pas pour autant les autres stades larvaires. Pour mettre en avant de potentielles variations de l'effet du son sur les stades ontogéniques, j'ai aussi exposé des larves aux stades véligère et post-larve.

III.3. Choix de la méthodologie

III.3.1. Expériences en milieu contrôlé et contraintes associées

Les expériences bioacoustiques en bassins présentent l'avantage de pouvoir contrôler tous les paramètres physiques (température, salinité, bruit ambiant, turbidité) et biotiques (prédation, compétition) du milieu. Elles offrent la possibilité d'étudier des stades sensibles et à échelle réduite tels que les stades larvaires. L'utilisation de bassins permet donc des observations impossibles dans le milieu naturel. Cependant, étudier les larves d'invertébrés marins en milieu contrôlé représente un challenge méthodologique. De même, réaliser une expérience acoustique en milieu fermé est un défi technique (Wale et al., 2021). Nous avons donc développé et testé une cuve permettant à la fois l'élevage larvaire et la diffusion de sons. Baptisée le *Larvosonic*, elle est présentée dans le **premier chapitre** dédié à la méthode et fut utilisée dans les trois expériences composant le cœur des **chapitres 2, 3 et 4**.

Le *Larvosonic* est un bassin de taille 1360 x 950 x 680 cm, contenant six cylindres de diamètre 92 mm et de hauteur 382 mm (Figure 21). Chaque cylindre du *Larvosonic* peut contenir une quantité suffisante de larves permettant plusieurs analyses combinées,



notamment des extractions lipidiques qui sont gourmandes en matériel biologique, tout en respectant une densité d'élevage relativement basse. Pour nourrir les larves, la ration journalière de microalgues a été adaptée pour limiter au maximum la compétition entre les larves. Les bassins expérimentaux, installés dans d'anciennes chambres froides équipées de chauffage et de thermostat, sont maintenus à une température d'élevage optimale et la plus constante possible. La structure principale du *Larvosonic* est en plexiglass pour laisser passer la lumière et permettre un cycle jour/nuit. Le *Larvosonic* a été pensé pour faciliter les manipulations de l'utilisateur : ses cylindres sont amovibles et sont prévus pour contenir 5L d'eau. La transparence des cylindres facilite les observations pendant l'expérience. Enfin, ce bassin a été élaboré en portant une attention toute particulière à éviter la pseudo-réplication et avec un nombre suffisant de répliques pour permettre des analyses statistiques puissantes. Toutes les expériences menées durant cette thèse ont été réalisées au sein de l'écloserie du Tinduff, un lieu de production de coquilles Saint-Jacques unique en Europe. J'ai ainsi profité du savoir-faire d'élevage, du matériel aquacole et de la production algale quotidienne.

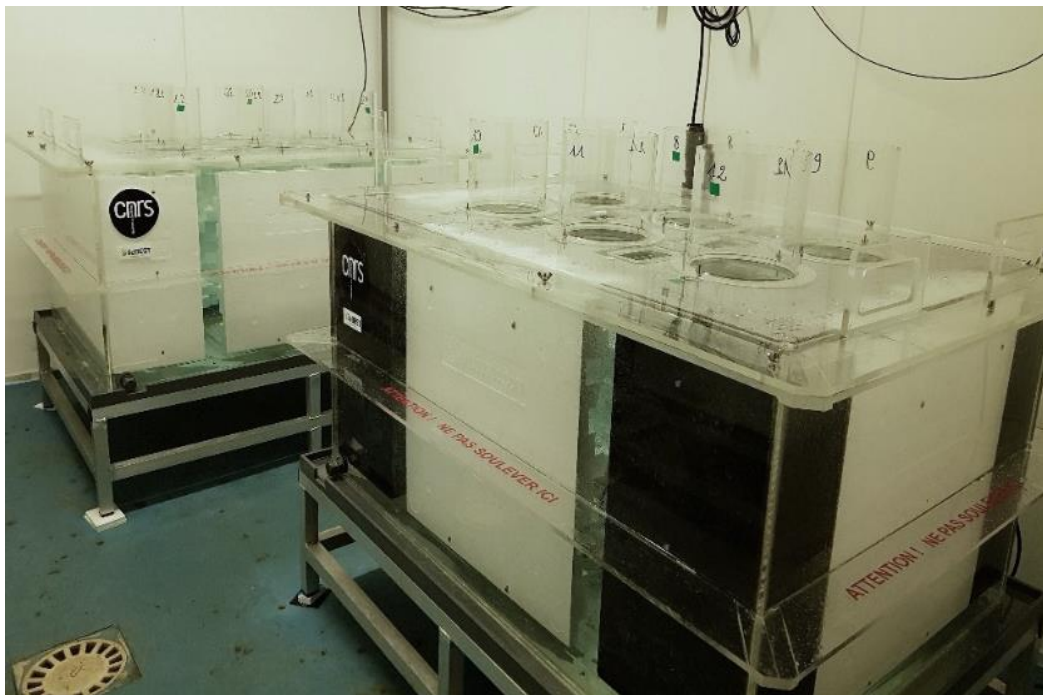
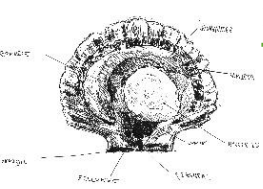


Figure 21 : Deux bassins *Larvosonic* dans leur configuration expérimentale.

L'utilisation du son comme facteur d'étude entraîne des contraintes matérielles et physiques liées à son émission. La propagation de l'onde sonore dans un milieu confiné est toujours compliquée du fait de la présence de parois qui, comme tout changement de



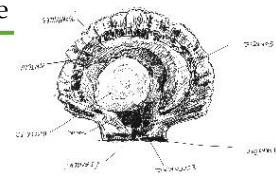
milieu, réfléchissent l'onde (Gray et al., 2016). Pour s'affranchir de cette déformation due à la réverbération, les expériences devraient être conduites dans un milieu dit « ouvert » où la largeur et la profondeur d'eau excèdent largement la longueur d'onde maximale du son émis, des conditions rarement compatibles avec les contraintes spatiales des laboratoires. Chaque bassin possède des fréquences de résonance qui dépendent de ses dimensions. Quand les fréquences émises dans le bassin sont proches de la fréquence de résonance minimale, l'onde stationnaire est amplifiée, le spectre est distordu et le son persiste dans le temps, ce qui est problématique pour l'émission de sons impulsionnels (Akamatsu et al., 2002). Si les fréquences émises sont de longueur d'onde bien inférieure à la taille de la cuve, elles sont réfléchies de multiples fois par les parois. A l'inverse, les fréquences dont la longueur d'onde est supérieure à la taille de la cuve sont fortement atténuées, entraînant une diminution du niveau des basses fréquences et de fortes différences spatiales. Ces phénomènes de réverbération, les moyens engagés pour y remédier ainsi que tous les tests acoustiques effectués sur le *Larvosonic* sont détaillés dans le **chapitre 1**.

III.3.2. Démarche scientifique

Après cette introduction qui pose les bases acoustiques et biologiques nécessaires à la compréhension du sujet, la suite de ce manuscrit de thèse s'articule autour de quatre chapitres, rédigés sous forme d'articles scientifiques. Le **chapitre 1** décrit le matériel et les méthodes qui seront employés dans les **chapitres 2, 3 et 4**.

L'expérience décrite dans le **chapitre 2** est, à notre connaissance, la première à étudier l'impact des bruits de battage et de forage sur des larves de coquille Saint-Jacques *Pecten maximus*. Cet animal est présent sur toutes les côtes françaises, notamment à St-Brieuc, et méritait donc toute notre attention concernant l'étude de l'impact acoustique des parcs éoliens.

La réponse d'un individu à un stress dépend aussi de son expérience vécue et de celle de ses parents. Cette théorie de l'effet maternel a guidé le plan d'expériences du **chapitre 3** où nous avons exposé des coquilles Saint-Jacques adultes puis leur descendance à des bruits de battage. Cette approche trans-générationnelle permet d'interpréter les résultats à l'échelle de la population et de sa dynamique.



Les réponses des invertébrés diffèrent entre les espèces, même proches. Il était donc essentiel dans le **chapitre 4** d'étudier une autre espèce de bivalve, également présent sur les côtes françaises, la praire *Venus verrucosa*. Cette espèce peu étudiée permet une comparaison avec la coquille Saint-Jacques étudiée dans les **chapitres 2** et **3**. La Figure 22 donne une représentation schématique des points communs et différences entre les trois expérimentations réalisées au cours de ma thèse et qui en constituent les **chapitres 2, 3** et **4**.

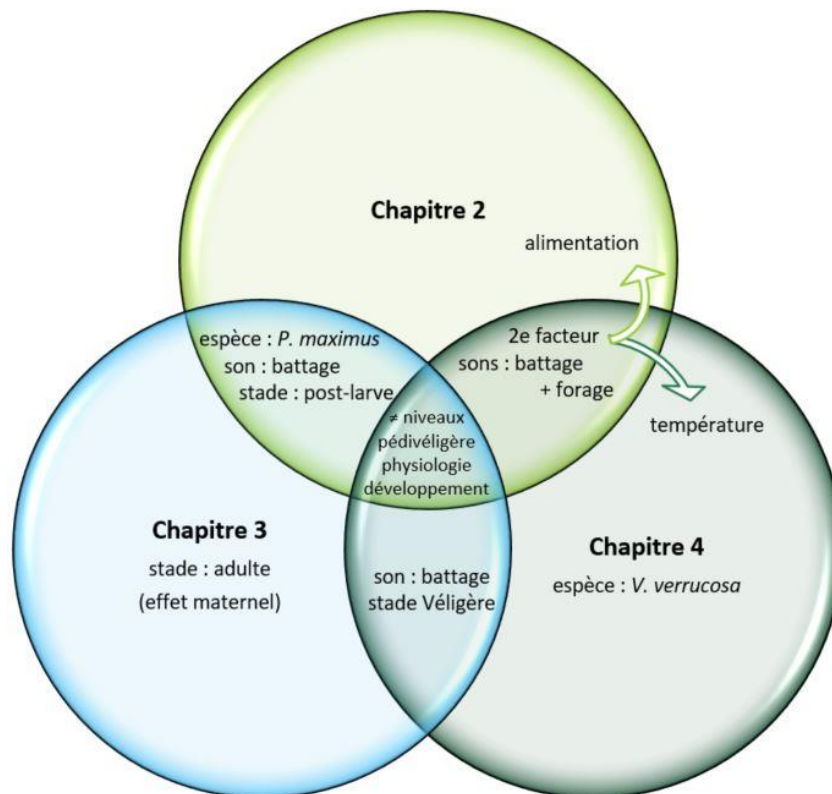
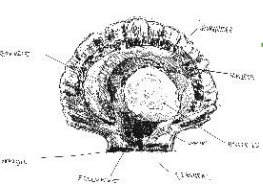


Figure 22 : Schéma récapitulatif des différences et similitudes entre les chapitres du manuscrit.

Nous avons voulu tester les impacts indépendants du battage et du forage dans les **chapitres 2** et **4** car ce sont les deux types de travaux utilisés lors de l'installation d'éoliennes offshores. Si les spectres acoustiques sont principalement de haute énergie dans les basses fréquences, le battage est un son impulsionnel alors que le forage est continu. La comparaison de leurs effets nous semblait intéressante pour comprendre la sensibilité acoustique larvaire. De plus, si l'un ou l'autre des travaux possédait un effet moindre, il pourrait être potentiellement à favoriser pour réduire l'impact des chantiers offshores. La lourdeur du plan expérimental du **chapitre 3** ne permettait pas d'étudier l'impact acoustique de deux sons. Nous avons donc choisi le battage puisqu'il était privilégié dans le contexte du parc éolien de Saint-Brieuc.



Dans les **chapitres 2, 3 et 4** sous avons voulu reproduire au maximum les rythmes d'exposition que nous avons choisis en concertation avec Ailes Marines-Iberdrola (maître d'ouvrage et propriétaire du parc éolien de Saint-Brieuc) pour approcher au mieux ceux des travaux prévus. Nous avons fait varier les niveaux sonores d'exposition dans le but d'étudier la relation dose-réponse. Le but était de déterminer le niveau minimum pour observer une réponse. Par extension, déterminer à partir de quel niveau l'effet est délétère permet de déterminer une zone d'impact autour de la zone de travaux et potentiellement permettre la mise en place de régulations et stratégies de limitation du bruit.

Nos expériences se voulaient exploratoires et les études existantes sur d'autres espèces laissaient à prévoir des modifications développementales et comportementales chez les larves (Day et al., 2017; Wilkens et al., 2012; Williams et al., 2022). Dans les **chapitres 2, 3 et 4** nous avons donc axé la quantification des impacts acoustiques sur la mortalité, la croissance et la métamorphose. L'importance du métabolisme énergétique pour les larves d'invertébrés (Forêt et al., 2020; Pernet and Tremblay, 2004), notamment dans le développement de certaines théories écologiques, nous a poussés à intégrer une approche lipidique à nos analyses. Cette approche physiologique ajoute à la réponse tertiaire observée une information sur la réponse primaire et permet une stratégie de recherche plus intégrative. La réponse des individus au bruit, comme tous les autres facteurs, dépend notamment de leur stade de vie. Nous nous sommes donc intéressés à trois stades larvaires entourant la métamorphose, charnière du développement : le stade véligère (pré-métamorphique), le stade pédivéligère (métamorphique) et le stade post-larve (post-métamorphique).

Nous avons choisi de tester l'interaction entre le son et deux autres facteurs, l'alimentation dans le **chapitre 2** et la température dans le **chapitre 4**, pour modifier l'état physiologique des larves d'écloserie et potentiellement modifier leur sensibilité au son. D'autre part, de nombreuses études ont mis en évidence de fortes interactions entre les facteurs sur le développement des larves (Forêt et al., 2020; Jolivet et al., 2016).

Je clôturerai ce mémoire par une discussion générale synthétisant et mettant en relation les principaux résultats de ces quatre chapitres. Ce sera également pour moi l'occasion de discuter des enjeux des études d'impact bio-acoustiques dans le contexte actuel et des perspectives d'études complémentaires qui pourraient être mises en place.



© Liz Hascoët / Fovearts

Chapitre 1:

Assessing the impacts of anthropogenic
sounds on early stages
of benthic invertebrates:
the '*Larvosonic system*'



Synthèse

Ce premier chapitre est consacré à la présentation du dispositif expérimental qui sera utilisé dans les trois chapitres suivants pour déterminer l'impact des sons de battage et de forage sur les stades jeunes des invertébrés. Il s'agit d'une cuve, baptisée *Larvosonic*, qui possède la double fonction de maintenir des larves dans des conditions contrôlées et de dispenser une diffusion fidèle des sons. Elle est constituée d'un bassin en plexiglass de 800 litres dans lequel sont imbriqués six cylindres indépendants de 5 litres où sont déposées les larves. Sur le fond est fixé un haut-parleur dirigé vers le haut, donc vers les cylindres, relié à un système de contrôle du son.

Une revue approfondie de la littérature concernant les études d'impact acoustique sur les larves et juvéniles marins nous a permis d'identifier un réel besoin quant à la création et la caractérisation acoustique des bassins expérimentaux. Peu de recherches sont faites sur les impacts des sons anthropiques sur les invertébrés et encore moins sur les stades jeunes. Le point commun de ces études est qu'elles utilisent presque exclusivement des bassins pour l'exposition sonore. La transmission acoustique dans ces cuves est complexe et elle est rarement caractérisée aux dépens d'un seul contrôle des niveaux sonores. Pourtant, la propagation d'une onde dans un volume réduit entraîne des phénomènes de réverbération de résonance qui déforment le son, tant dans son contenu fréquentiel que dans sa temporalité.

Une caractérisation acoustique détaillée du *Larvosonic* a permis de prouver que l'utilisation de panneaux de polystyrène expansé réduit ces phénomènes. Les diffuseurs et pièges à basses fréquences que nous avons immergés, d'habitude utilisés pour corriger l'acoustique d'un lieu, constituent donc d'efficaces absorbants acoustiques. La caractérisation du spectre lors de l'émission de battage et de forage nous a permis de montrer que nos sons d'intérêt étaient fidèlement reproduits. Ce chapitre présente aussi les variations de niveaux entre les cylindres et au sein d'un même cylindre, variations qui restent inférieures aux différences de niveaux entre nos conditions expérimentales. Le spectre, lui, ne change pas selon la position dans le bassin. Les niveaux maximaux supportés par notre dispositif ont permis d'émettre un niveau de forage équivalent à celui enregistré à la source et un niveau de battage équivalent à 170 m de la source. Enfin une

mesure de vitesse particulière a permis de montrer que le ratio entre l'énergie potentielle et l'énergie cinétique est constant en fonction du niveau sonore, justifiant la seule mesure de la pression acoustique pour comparer les niveaux sonores de nos différentes conditions. Par contre, il varie largement en fonction de la distance à la source sonore et de la fréquence.

Plusieurs avantages de notre dispositif sont aussi mis en avant dans ce chapitre. Le caractère indépendant des cylindres est suffisant pour mener des analyses statistiques puissantes sans pseudo-réplication et permet d'y imposer des paramètres différents comme, par exemple, de faire varier la ration alimentaire. Le volume important de nos unités de réplication a permis d'exposer un grand nombre de larves sans risquer de créer une compétition inter-spécifique due à une trop grande densité. La grande quantité de matériel disponible nous a permis de mener des analyses biochimiques sur les larves en plus des échantillons récoltés pour le comptage de mortalité et de croissance.

Ce chapitre illustre aussi la performance du dispositif par une expérience d'exposition de post-larves de coquilles Saint-Jacques. Nous avons démontré que leur croissance est modifiée par le bruit de battage et de forage et que le niveau sonore module la force de la réponse. L'effet du son agit en interaction avec la ration alimentaire sur les performances larvaires. Ce chapitre est donc l'occasion de présenter la méthode de production et d'élevage larvaire qui a été appliquée dans les quatre chapitres de cette thèse.

Même si quelques améliorations peuvent être suggérées, le *Larvosonic* est un outil performant et adapté aux études d'impact acoustique sur les larves. Cela soulève la nécessité d'une standardisation et d'une calibration des dispositifs expérimentaux qui rendrait les résultats de la communauté tous comparables.



Assessing the impacts of anthropogenic sounds on early stages of benthic invertebrates : the 'Larvo sonic system'

Frédéric Olivier^{1*}, Mathilde Gigot², Delphine Mathias³, Youenn Jezequel^{2,4}, Tarik Meziane¹, Christophe L'Her⁵, Laurent Chauvaud², Julien Bonnel⁶

In revision in *Limnology & Oceanography Methods*

¹Biologie des Organismes et Écosystèmes Aquatiques (BOREA) UMR 8067 MNHN, CNRS SU, IRD 207, UCN, UA, 61 Rue Buffon CP 53, 75005 Paris, France

²Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR) UMR 6539 UBO/CNRS/IRD/Ifremer, rue Dumont D'Urville, 29280 Plouzané, France

³SOMME, Société d'Observation Multi-Modale de l'Environnement, 2 rue de Suède. Bloc 03, 56400 Auray, France

⁴Biology Department, Woods Hole Oceanographic Institution, Woods Hole, MA 02543 USA

⁵Sercel, Underwater Acoustics, 12 rue de Villeneuve, 29200 Brest, France

⁶Applied Ocean Physics & Engineering, Woods Hole Oceanographic Institution, Woods Hole, MA 02540, USA

Abstract

Noise produced by human activities has increased in the oceans over the last decades. Whereas most studies have focused on the impact of anthropogenic noise on marine mammals and fishes, those focusing on marine invertebrates are rarer and more recent, especially when considering peri-metamorphic benthic stages, highly sensitive to anthropogenic perturbations. A careful review of the literature reveals a simplistic characterization of the acoustics within the containers used to quantify larval and juvenile responses to noise, thus weakening the conclusions of such works. To address this problem, we developed the *Larvosonic* system, a laboratory tank equipped with acoustic assets to assess the impacts of noise on young stages of marine invertebrates. We first provide a careful analysis of the tank sound field using different sound types, and we assess the effects of expanded polystyrene units on the sounds emitted by a professional audio system in order to dampen reverberation and resonance. Then, we apply this acoustic calibration to the effects of both pile driving and drilling noises on post-larvae of the scallop bivalve *Pecten maximus*. Acoustic recordings highlight that diffuser and bass trap components constitute effective underwater sound absorbents, reducing the reflection of the whole frequency bandwidth. Scallop experiments reveal that both type and level of the tested noise influenced post-larval growth, with interactive effects between trophic environment and noise level/spectra. The *Larvosonic* system thus constitutes an efficient tool for bioacoustics research on benthic-planktonic invertebrate species.

Keywords

Larval ecology, anthropogenic noise, recruitment, benthic invertebrates, *Larvosonic*, noise pollution, *Pecten maximus*.



I. Introduction

Noise produced by human activities has increased in the oceans over the last decades (Duarte et al., 2021). Bioacousticians use a common parameter, named Sound Exposure Level (SEL), to quantify the exposure of an organisms per unit of time to a particular noise of a known source level. SEL can be expressed within a fixed band frequency, usually in dB re 1 $\mu\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ (Martin et al., 2019). Other metrics also are used to quantify various types of sounds. For example, the natural metric to quantify a continuous broadband sound is the root-mean-square (RMS) Sound Pressure Level (SPL), written as SPL_{rms} , the metric to quantify transient impulsive signals is the peak-to-peak SPL (Madsen, 2005), written as SPL_{pp} . Importantly, the numerical value of a given metric cannot be compared to the numerical value of another metric (e.g. we cannot compare the SEL of X dB re 1 $\mu\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ with the SPL_{pp} of Y dB re 1 μPa). This difficulty complicates the intercomparison of bioacoustic studies, but is a necessary burden to quantify sound features and their potential impact on the environment.

Anthropogenic noise in the ocean is created by a myriad of different sound sources. The origins of the loudest noises at the emitting source include explosives (SEL broadband = 237 dB re 1 $\mu\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$, Bagočius and Narščius, 2019), seismic surveys by airguns (Carroll et al., 2017; SEL broadband ~ 203 dB re 1 $\mu\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$, Day et al., 2016), and drilling (~ 184 dB re 1 μPa rms; Kyhn et al., 2014) and pile driving operations (SEL broadband ~ 177 dB re 1 $\mu\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ at 750 m, Matuschek and Betke, 2009 ; Amaral et al., 2020; 'estimated Source Level' $\text{SL}_E \sim 215\text{--}220$ dB re 1 μPa , Ainslie et al., 2012) that have multiplied in shallow waters with the development of marine renewable energy devices. To a lesser extent, vessel noise produced by operating high-energy propellers, gears, and diesel generators can reach more than 200 dB re 1 μPa at the source for large and powerful ships (Chauvaud et al., 2018; Erbe et al., 2019). Vessels have contributed to a 16-fold increase in low-frequency noise in some parts of the oceans over the last 50 years (M. A. McDonald et al., 2006 ; Malakoff, 2010). Within that context, assessing the potential impacts of anthropogenic noise on marine organisms is a major concern for environmental stakeholders. This is attested in the CEE by the adoption of Descriptor 11 in the Marine Strategy Framework Directive Good Environmental Status 2008/56/EC (MSFD-GES, Van der Graaf et al., 2012), which states, '*Introduction of energy, including underwater noise, is at levels that do not adversely affect the marine environment.*'

Over the last two decades, the bulk of studies have focused on mammals with subsequent implementation of noise exposure criteria (Southall et al., 2007) and underwater acoustic thresholds (National Marine Fisheries Service 2016, 2018). Research focusing on the impacts of underwater noise on fishes (reviewed in Hawkins and Popper, 2018) has detailed categories of hearing capabilities related to anatomical features (e.g., presence/lack of a swim bladder; Popper et al., 2014). By contrast, and as outlined by Hawkins and Popper (2017), we recognize a crucial need to increase our knowledge of the potential impacts of anthropogenic noise on marine invertebrate species. Indeed, the sparse available data for any invertebrates mainly focus on adult stages (but see references in Bonnel et al., 2022) with very few papers dealing with vibrations effects (reviewed in (Hawkins et al., 2021) related to some anthropogenic marine operations (Roberts and Elliott, 2017). Of paramount importance is the need to specify the biological/ecological responses to man-made noise that impact the components of the animal's fitness including growth, development, longevity, or reproductive success (Hawkins et al., 2020).

In coastal temperate and subarctic areas, most invertebrates of commercial (fisheries and aquaculture) or functional interest (engineer species, Passarelli et al., 2014; as defined by Jones et al. (1997) display a benthoplanktonic life cycle, including a pelagic larval stage lasting from one day to several weeks (Thorson, 1950). Colonization of the substratum by competent larvae (i.e., ready to settle and metamorphose) and the subsequent weeks after this primary settlement phase is a critical step during which more than 90% of mortality occurs (Pedersen et al., 2008). This stage is driven by multiple abiotic and biotic factors but see reviews of (Butman, 1987; Hunt and Scheibling, 1997; Olafsson et al., 1994; Pineda et al., 2009), yet the influence of underwater sound is not well documented.

The effect of sound on some species of marine invertebrate larvae was studied initially more than three decades ago. Branscomb and Rittschof (1984) demonstrated that the primary settlement of wild cyprid stages in the barnacle *Amphibalanus amphitrite* (a major source of fouling in tropical areas) was inhibited by a narrow-band low-frequency 30-Hz sound and that metamorphosis was delayed up to 2 weeks. Working on the same species, Guo et al. (2012) also tested the impact of continuous ultrasounds through substrate vibrations with varying frequencies (23, 63, and 102 kHz) for 24 hours on larval ecology. The authors observed that only 23 kHz significantly reduced the primary



settlement of cyprid larvae and that the same antifouling effect can be obtained with a discontinuous sound. In another study, Choi et al. (2013) proposed installing collectors (lead-zirconate-titanate ceramic transducers = PZT panels) at sea to estimate fouling dynamics during a 3-months period, and also tested the vibration effect of these panels at various speeds and low frequencies (70 to 445 Hz). Of the fouling species that recruited on the panels, only barnacle species (*A. variegatus* and *Elminius* sp.) were sensitive to the vibrations, with reduced fixation rates beyond 260 Hz. The underwater sound produced by vessels is also an important cue biologically for settlement of the larval stage of species involved in fouling and bioinvasion, such as mussels, ascidians, and barnacles (McDonald et al., 2014; Stanley et al., 2014; Wilkens et al., 2012). Recent evidence suggests that vessel noise generates an interactive non-linear effect with the trophic environment that acts on larval settlement of *Mytilus edulis* (Jolivet et al., 2016). Pre-recorded sounds of natural oyster reefs also can stimulate settlement of *Crassostrea virginica* oysters after a few days (Eggleston et al., 2016). Overall, the positive (e.g., enhanced settlement, metamorphosis...) and negative (e.g., body malformations, development delays...) responses from marine invertebrate larvae to anthropogenic noise differ widely among studies (see Supplementary Material 1 for details).

The common link binding the studies is the use of tanks, which are required to control development of larvae. However, the sound field in small enclosed seawater tanks is complex and has not been fully characterized in the bioacoustics literature, making data comparisons between studies infeasible. Three major acoustic biases in tanks are described commonly in the literature (e.g., Kleiner and Tichy, 2014). First, low-frequency sounds are highly attenuated in small tanks when the wavelength of the emitted sound (e.g., a 100 Hz sound has a ~15 m wavelength) is larger than the tank size (Gray et al., 2016; Rogers et al., 2016). This phenomenon can lead to important spatial dissimilarities in the received levels in the tank (even a few centimeters apart), and a global loss of the low-frequency content of the signals (Jézéquel et al., 2019, 2020). Second, depending on the dimensions of the tank, resonant frequencies distort mid-frequency sounds and create holes and peaks in the original sound spectrum and also lengthen the signal at specific resonant frequencies (Akamatsu et al., 2002; Novak et al., 2018). Third, high-frequency signals (with wavelengths much smaller than the tank size) are affected by multiple reflections with the tank walls. This well-known phenomenon in room acoustics

lengthens the whole signal and is usually quantified as the “reverberation time” (e.g., Kleiner and Tichy, 2014).

Overall, acoustic signals recorded in tanks have different duration and frequency content compared to the original sound, which influences bioacoustics studies markedly (Jézéquel et al., 2019). When studying noise impacts on organisms, sound exposure (and thus the resulting potential behavioral response) can vary according to the position in the experimental tank (Jones et al., 2020). As a result, major methodological challenges are associated with proper assessment of the impact of sound on marine animals using laboratory experiments. Meeting these challenges is critical for ecologists to assess the role of anthropogenic noise on larval stages. We recognized a need to develop new standard experimental set-ups that combine both the control of large batches of larvae and an accurate calibration of the sound field. We present here the 'Larvosonic' system, which aims to enable laboratory studies to assess potential impacts of anthropogenic broadband noise on young stages of invertebrates. In this article, we first provide a careful analysis of the sound field in the tank using different sound types, and assess the effects of different materials (e.g., diffusers) on the emitted sounds. Then, we apply this acoustic calibration to the effects of both pile driving and drilling noise on post-larvae of the scallop bivalve *Pecten maximus*.

II. Materials and methods

II.1. Larvosonic system

The structure consists of one main tank of ~800-L (Figure 23; external dimensions: length x width x height = 1,360 x 935 x 680 mm) made of transparent plexiglass (10 mm in thickness), assembled with Altuglas© Adhesive S2002 methyl methacrylate glue. The tank is designed to be settled on an aluminum frame on which a PVC plate is fixed (not included in Figure 23). The main tank is filled completely so that the sealed cover is in direct contact with seawater to avoid any air–water interface (except few microbubbles) that is known to alter sound propagation (Rogers et al., 2016). Horizontal level can be adjusted through inox screws in the frame and in plastic disks bases that maximize the decoupling of sound emission with the floor. At the center of this main tank is a removable plate on which various type of underwater speakers are fastened,



their selection being related to the type of sound tested: the Clark Synthesis AQ339 Diluvio™ (<https://clarksynthesis.com/aq339/>) was the most adequate speaker for noises related to marine renewable energy devices operations but both DNH Aqua30 units (<https://www.dnh.no/uploads/filer/365-AQUA-30.pdf>) and Lubell LL916 (<http://www.lubell.com/LL916.pdf>) can also be used (see below). To attenuate sound reverberation and resonant frequencies in the *Larvosonic*

system, we used two types of expanded polystyrene diffusion panels (*Vicoustic* ©; <http://www.vicoustic.com>) fixed on additional plexiglass plates that can be settled on the internal walls of the main tank. *Trap Fuser* unidirectional panels were positioned at each corner of the main tank to allow sound energy to be trapped in the cavities and/or scattered by the plain surfaces. The bi-dimensional *Multifuser DC2* panels were positioned at the center of each wall of the main tank providing multi-reflection on both vertical and horizontal planes with maximum efficiency in mid and high frequencies (maximum absorption in air between 0.8–2.5 kHz). The underwater speaker AQ339 was screwed on a removable plexiglass plate also screwed to the floor of the main tank at its center. This speaker was adapted to reproduce the natural spectrum and level of drilling and/or pile driving sounds due to its broadband high-level response (see SPL diagram versus frequency here: http://www.lubell.com/AQ339_SPL.pdf).

The main tank holds several containers of larval batches. Each container is composed of a Plexiglas cylinder (internal dimensions: diameter = 192 mm, total height = 382 mm), half-filled (water height = 175 mm) with a mixture of diet, larvae, and filtered seawater. Because we intended to conduct fatty acid analyses of the larvae, and large batches of peri-metamorphic stages are required for that purpose, we adjusted the total volume within the 5-L cylinder to maintain 40,000 individuals at the veliger stage and 10,000 at the post-larval stage (larval concentration < 1 larva mL⁻¹ to avoid any density-dependent effects) during the experiment. This was the main constraint of the actual design of the *Larvosonic* system. To study variations in the filter-feeding activity of larvae, microplates can be also used, each of six wells being filled at the start of short experiments with batches of 20 larvae and a solution of a monoculture of microalgae (total volume = 20 mL; detailed in **Chapter 2**). For a given *Larvosonic* system, we were thus able to settle six cylinders and six microplates fitting in a removable lid fixed to the main tank (Figure 23).

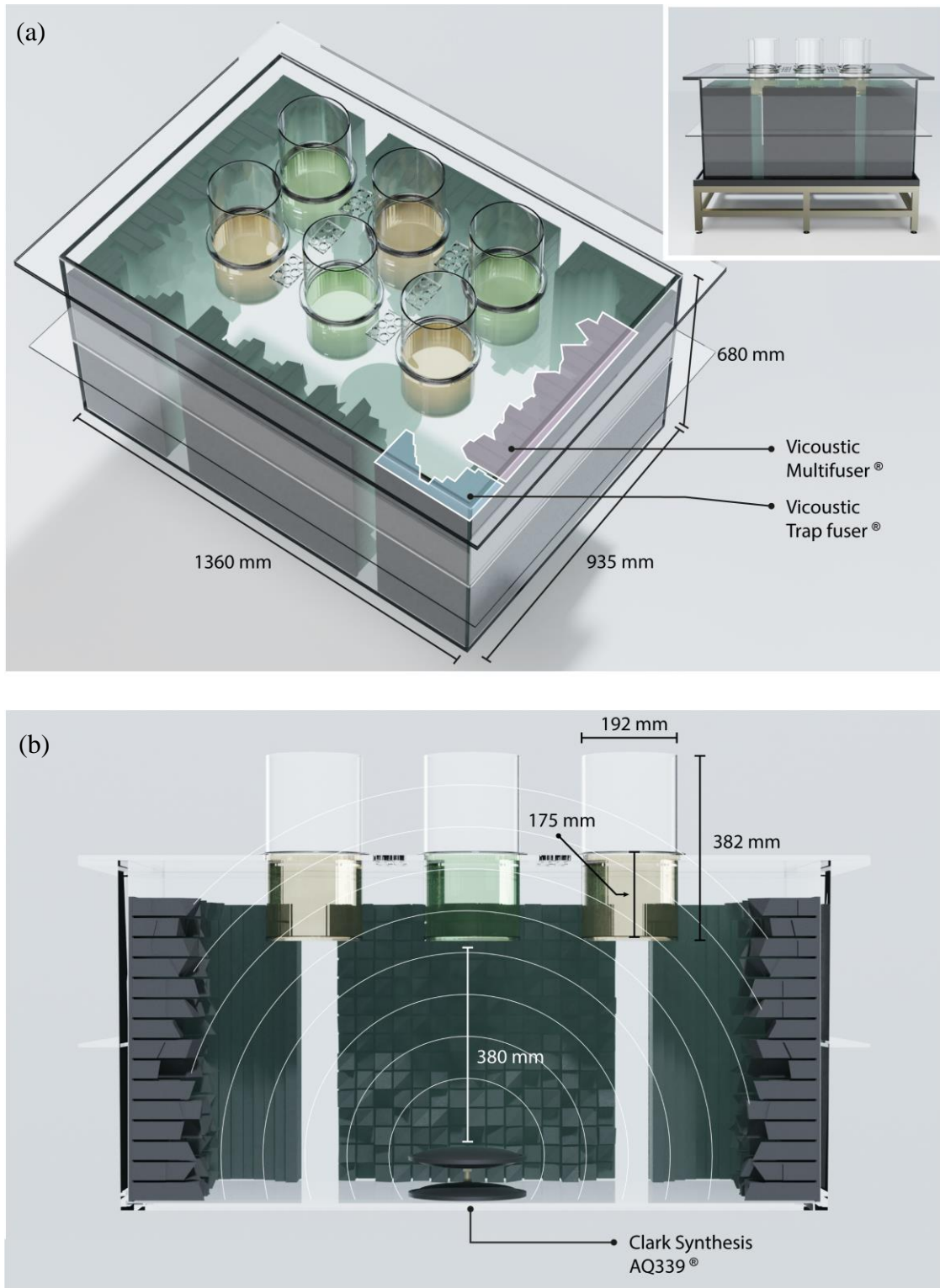


Figure 23: General description of the *Larvosonic* system in a) 3D view and b) cross-section.



We used a Yamaha MTX3 digital matrix processor, coupled to a Powersoft Otto 1204 DSP 8-channels amplifier (8 x 150 W), to allow simultaneous sound emissions of various types and levels per *Larvosonic* unit. Sound files can be played through two Denon DN300Z CD/media players that each includes Bluetooth®/USB/SD/Aux and an (<https://www.denonpro.com/index.php/products/view3/dn-300z>) AM/FM tuner reader. Settings were determined using the MTX-MRX Editor V4.0.0 for Win10 (<https://usa.yamaha.com/products/proaudio/processors/mtx/downloads.html#product-tabs>) freely available on the following website.

II.2. Sound field of the *Larvosonic*

II.2.1. Sound recordings and analyses

All acoustic recordings were made with a RTSYS EA-SDA14 (<https://rtsys.eu/>) underwater acoustic recorder (sampling frequency of 78 kHz, 32-bit resolution) equipped with two calibrated HTI-92-WB (<http://www.hightechincusa.com/products/hydrophones/hti92wb.html>; High Tech, Inc.) hydrophones (length x diameter = 102 x 38 mm; sensitivity of either -165.2 dB re 1V/μPa or -210 dB re 1V/μPa) located at the center of each cylinder. After recording, sound files were selected manually using Audacity® (Version 2.4.2; Audacity Team 2018), and then analyzed using a custom Matlab script (The MathWorks, Inc.). Sound time series ($S(t)$) were first corrected from volts to μPa pressure units ($p(t)$) by multiplying voltage data by sensitivity values (accounting for gain applied) provided by the recorder's constructor using the following equation:

$$p(t) = S(t) \times 10^{\frac{-G}{20}} \times D \times 10^{\frac{-SH}{20}}$$

where G (dB) is the recorder gain ($G = 0.72$ dB), D is the dynamic response of the recorder (2.5 V), and SH is the sensitivity of the hydrophone. SPLs (in dB re 1 μPa; Supplementary Material 3) for each subsample were calculated in a time window corresponding to the length of the recorded sound (T) (Erbe, 2010), where $T = 5$ (sweep and white noise), 7 (drilling), 10 (pile driving) or 28 s (boat). Power spectral densities (PSDs, dB re 1 μPa/Hz) and spectrograms (dB re 1 μPa/Hz) were computed on Matlab software. PSD representations were produced by dividing the recording sound into windows (5-s duration) and conducting a discrete Fourier transformation on each window. Spectrograms of the chirp sounds (see section III.3.5 p71) were restricted to the 0–3-kHz range to focus on resonant frequencies. Chirp signals were first decimated by a factor of

7 to center the figures on the low part of the specter where most of the resonant frequencies occurs. Then, spectrograms were computed using a hamming window of 47-ms duration, a fast Fourier transform length of 3,000 samples, and a 99% overlap.

II.2.2. Resonance calculation

Reverberation is a well-known effect of sound fields in enclosures, and is described in detail in room acoustics literature (e.g., Chapter 2 of Kleiner and Tichy, 2014). At high frequencies, tank walls cause multiple reflections leading to the persistence of a sound after its emission. At mid-frequencies, the sound field exhibits a series of resonant frequencies depending on the tank dimensions and wall properties, whereas at low-frequencies the sound speed decays exponentially with the source–receiver range. Simple equations for an experimental tank are given in Akamatsu et al. (2002), which summarizes the main effects by showing empirical examples. Although Akamatsu's acoustic model has been used previously to understand sound fields in tanks (Jézéquel et al., 2018, 2019; Jones et al., 2019), such a model remains quite simplistic because it does not integrate properties of the tank walls, and so tends to overestimate the resonant frequencies.

A better model, more complex but still easily tractable, is proposed in Novak et al. (2018), who also provided a companion Matlab code to estimate the sound field in a tank and its associated resonant frequencies. We used this more tractable model to assess the resonant frequency of the first three modes in the *Larvosonic* system. The model inputs include tank size (see Table 3), water properties (sound speed c_{wat} , density ρ_{wat}), air properties (sound speed c_{air} , density ρ_{air}), as well as wall properties (thickness h , sound speed c_{wall} , and density ρ_{wall}) (see Table 2). The variable c_{wat} can be related to temperature T , salinity S , and pressure P by the equation (Medwin and Clay, 1998):

$$c_{wat} = 1449.2 + 4.6T - 0.0557T^2 + 0.00029T^3 + (1.34 - 0.0107T)(S - 35) + 1.58 * 10^{-6} P$$

In our experimental conditions, we have $c_{wat} = 1,493$ m/s and $\rho_{wat} = 1,027$ g/cm³. The wall properties are $c_{wall} = 1,700$ m/s, $\rho_{wall} = 1,180$ g/cm³, and $h = 10$ mm, with c_{wall} and ρ_{wall} nominal values for Plexiglas (<https://www.classltd.com/sound-velocity-table/>).



Table 2: Parameters used to calculate theoretical resonant frequencies using the model from Novak et al. (2018).

Parameter		Notation	Value	Unit
Wall properties	Thickness	h	10^{-3}	m
	Sound speed	c_{wall}	1700	$m.s^{-1}$
	Density	ρ_{wall}	1180	$kg.m^{-3}$
Water properties	Temperature	T	11,3	$^{\circ}C$
	Salinity	S	34,1	‰
	Pressure	P	1013,25	Pa
	Sound speed	c_{wat}	1493	$m.s^{-1}$
	Density	ρ_{wat}	1027	$kg.m^{-3}$
Air properties	Sound speed	c_{air}	340	$m.s^{-1}$
	Density	ρ_{air}	1,255	$kg.m^{-3}$

II.2.3. Sound field calibration

To calibrate the sound field in the *Larvosonic* system, we conducted a series of tests in February 2021 by playing a 90-s long sequence including different broadband and transient (i.e., pile driving, spiny lobster antennal rasps and chirps) or continuous (i.e. drilling, white noise, and fisherman boat) sounds (see Supplementary Material 2 for associated PSDs and Supplementary Material 3 for SPLs). The chirp sounds were swept linearly from 20 Hz to 10 kHz over a 5-s period. The white noise was spread equally over a wide frequency band (between 10 Hz and 10 kHz). Sound recordings were made when temperature and salinity of seawater were equal to 11.4°C and 34.2 psu, respectively. No larvae were present in the cylinders.

Both pressure and particle velocity are two components of the acoustic field that are obtained by solving the linear wave equation. However, in a tank, for a given frequency, the impedance (ratio between KE and PE) evolves non-linearly as a function of the source-receiver distance. Similarly, for a given source-receiver configuration, the impedance evolves non-linearly as a function of frequency. As a result, KE cannot be easily assessed from PE, which is often used to justify the measurement of particle velocity for bioacoustic studies. However, when source level increases (respectively decreases) by N dB, both PE and KE will increase (respectively decrease) by N dB. As a result, a pressure-only measurement cannot be used to evaluate impact in terms of absolute particle motion threshold; still, it can be used to assess impact in terms of trends,

i.e. showing that a specific response increases (or decreases) when both PE and KE increase (or decrease). To empirically illustrate this behavior, we acquired particle motion and pressure data associated with decreasing source-level drilling sound in December 2021, by using a vector sensor of the Sercel company based on the micro electro-mechanical system (MEMS) QuietSeis™ accelerometer sensor (Fougerat et al. 2018) and a traditional hydrophone, respectively. We considered a series of 5 drilling sounds that were emitted in the tank, with source level (SL) decreasing by about 1 dB from one signal to the next, leading to a 4 dB decrease over the whole sequence. For a given source position, particle motion and pressure were measured in either central or external cylinders. PE and KE were evaluated in frequency bands centered on 50, 100, 250, 500 and 750 Hz, with a 10 Hz bandwidth, arbitrarily chosen within the bandwidth of the particle motion sensor (about 5 to 800 Hz). Sound recordings were made when temperature and salinity of seawater were around to 17°C and 34 psu, respectively. No larvae were present in the cylinders.

We also quantified acoustic tank impacts on different sound features (frequency content and SPLs) that were used to assess 1) the intra-cylinder (records from various locations within a given cylinder) and inter-cylinder (records from all cylinders) acoustic variability, 2) the efficiency of diffusers on sound features (with or without diffusers), and 3) the influence of the presence of cylinders (with or without cylinders). The SPL at resonant frequencies is theoretically mostly independent of the distance between source and receiver (Akamatsu et al., 2002; Novak et al., 2018). We thus calculated the SPL_{rms} for each resonant frequency and for several non-resonant frequencies in both central and lateral cylinders, situated at different distances from the speaker.

Because the frequency response of our underwater speaker was between 10 and 1000 Hz only (Lubell Labs Inc. ®), we deployed the speaker in a large outdoor pool (length x width x height = 12 x 13 x 1.4 m) to assess its higher frequency band response (seawater 8°C and 34.5 psu).

II.2.4. Experimental sounds

The main experiment was conducted using pile driving (P) and drilling (D) sound signals. Those signals, described below, are different from the calibration sequence



presented in section III.3.4. Prior to noise emissions, we characterized the ambient noise levels of our experimental setup in all six cylinders of the two control tanks. The SPL_{rms} varied between 93.2 dB and 94.6 dB re 1 μ Pa. Such noise levels are comparable to ambient noise levels found in temperate coastal environments with variable wind conditions (Mathias et al., 2016).

The pile driving sequence is based on a *.wav file recorded by an RTSys system during the building phase of an offshore marine wind-farm of the North Sea (depth around 30 m, confidential data) including 6 h of sound emission followed by 6 h of silence, and then repeated. The drilling sequence (field recording in June 2018 at 200 m from the boat operating the geotechnical drilling; SOMME database) is based on a sound file of 19 h of sound emission followed by 5 h of silence, also repeated. These scenarios were chosen to match *in situ* work conditions (Ailes Marines, pers. comm.). Experiments were run in two isolated rooms, each with four *Larvosonic* systems. In one room, pile driving noise was emitted in three *Larvosonic* systems using a different source level (P1, P2, P3) in each tank and the fourth tank was used as a control (PC, no pile driving sound). Similarly, in the other room, drilling noise was emitted in three *Larvosonic* systems using a different source level (D1, D2, D3) in each tank and the fourth tank was used as a control (DC, no drilling sound). In all tanks, source levels were tuned so that measured noise exposure levels corresponded to what would be measured *in situ* at various distances from the source. The source levels were adjusted by recording 30 s of sound emission at the center of each cylinder (10 cm above its bottom) and are detailed in Table 3.

Table 3: Level of noise emitted in the *Larvosonic* system during the great scallop experiments as a function of either Drilling (D) or Pile Driving (P) treatments expressed as SPL_{pp} or rms as well as SEL_{24h} .

	Ambient Room noise SPL_{rms} re1 μ Pa \pm SE	P1 or D1	P2 or D2	P3 or D3	Theoretical <i>in situ</i> source level at 1m
<u>Pile Driving (P)</u>					
SPL_{pp} re1 μ Pa	100.3 + 0.7	147.6 + 2.5	167.1 + 2.4	187.6 + 2.4	221
SEL_{24h} re1 μ Pa.s \pm Standard Error (SE)	144.1 + 0.9	186.9 + 1.5	197.5 + 2.5	215.8 + 2.2	
<u>Drilling (D)</u>					
SPL_{rms} re1 μ Pa	96.3 + 0.8	107.0 + 2.1	126.8 + 2.1	175.4 + 2.3	172
SEL_{24h} re1 μ Pa.s \pm Standard Error (SE)	143.1 + 0.7	153.4 + 2.1	173.1 + 2.1	221.7 + 2.3	

II.3. Experiments in *Larvosonic* biological trials with post-larvae of *Pecten maximus*

II.3.1. Post-larval rearing

Post-larvae were produced at the 'Ecluserie du Tinduff' (Plougastel-Daoulas, France) following a modified method of Buestel et al. (1982). About 170 adults of *Pecten maximus* were collected by dredge the 26th November and the 6th December 2018 in the Bay of Brest in either Moulin Blanc (Latitude 48°23.050'N, Longitude 004°25.520'W; 10-12 m depth) and Lanvéoc (Latitude 48°18.145'N, Longitude 004°26.189'W; 11-12 m depth). Individuals were directly brushed in the laboratory to remove epifauna then kept in open flow circulating 2400 l tanks, previously filled with an 8 cm layer of coarse sediment (mean grain-size = $\frac{2}{3}$ of 0.6-1.6 mm and $\frac{1}{3}$ of 0.4-0.8 mm), supplied by 5- μ m filtered seawater. Scallops were fed continuously at satiety by a mixture of DTCS microalgae (*Diacronema lutheri*, *Tisochrysis lutea*, *Chaetoceros neogracilis*, *Skeletonema marinoi*) (DT $\frac{2}{3}$ CS $\frac{1}{3}$ ratio) at 5 to 10 billion cells per animal per day during 3 months. Temperature was increased by 0.5°C step every two weeks from 13 to 14.5°C to fasten maturation.

The 26th February 2019, we selected 23 adults by visually inspecting the maturation state of gonad (Paulet et al., 1995). Spawning was artificially induced by thermal shock from 14.5 to 19.5°C and 18 individuals spawned. Because the presence of the gametes in water stimulates other adults to spawn (Loosanoff and Davis, 1963), scallops that expelled sperm stayed in the tank while others were immediately isolated to individual jars. We started isolating animals that discharged sperm only when abundance of oocytes was considered to be sufficient. Cross-fertilization was performed at a rate of 1 oocyte per 8-10 sperm cells to avoid self-fertilization (Gruffydd and Beaumont, 1972) that is known to reduce the larval viability (Beaumont and Budd, 1983). The resulting eggs were sieved on a 70 μ m square mesh, then counted and introduced in five 450 l and six 150 l cylinder-cone tanks filled with 1 μ m filtered seawater so that initial density was set at 80 trochophore larvae.ml⁻¹ for 48h of incubation.



The seawater (salinity = 33 psu; temperature = 19.5°C) was treated with U.V. and stirred by air-bubbling. To prevent bacterial development, 9 ppm of erythromycin was added. At 2 days postfertilization (dpf), veliger larvae were sieved on a 55 µm square mesh and put at 40 larvae.ml⁻¹ in the same cylinder-cone tanks filled with 18°C seawater treated as previously described. Every day, water was renewed and larvae were sieved on square mesh to eliminate dead and low-growth individuals, raising the square mesh by 10 µm step from 55 µm at 2 dpf to 135 µm at 20 dpf, depending on the larvae size. Larval density decreased until 5 larvae.ml at 23 dpf. During rearing, larvae were fed once a day with either a DTC diet (1:1:1 ratio) at 20 cells.µl concentration from 2 to 8 dpf, then with a DTCS diet at 45 cells.µl concentration up to 23 dpf when they reached the pediveliger competent stage (i.e. ready to settle and metamorphose). When the presence of a double ring on pediveliger larvae was observed (i.e. indicating metamorphosis, Robert et al. 1999), settlers were transferred to 60 l PVC downwellers with 132-µm mesh sieve on which post-larvae can anchor before experimental trials. Density was set at 4 larvae.ml⁻¹ (i.e. 240,000 ind.downweller⁻¹) and 30 downwellers were placed in 3 open recirculating tanks (323 × 148 × 70 cm) of 2400 l supplied with 1 µm filtered seawater (no erythromycin and U.V. treated to train larvae immune system) at a flow-rate of 100 l.h⁻¹ and temperature was maintained at ≈17–18°C. Tanks were emptied and downwellers were gently cleaned every day. Post-larval rearing was conducted up to 34 dpf and they were fed with the same DTCS diet as previously described, once a day at 45 cells.µl⁻¹ during the settlement phase, then continuously with 130 billion cells per tank (i.e. 54 cells.µl⁻¹).

II.3.2. Post-larval exposure experiment

Prior to post-larvae sound exposure, we collected duplicate 2-mL aliquots of larvae using a micropipette. Vigorous homogenization by a plunger avoided any sampling bias (Helm and Bourne, 2006). Organisms from these aliquots were used to examine pre-experimental characteristics.

A noise impact study was performed on post-larvae of the scallop *P. maximus*. Batches of 10,000 post-larvae (34 days postfertilization [dpf]) were introduced in each cylinder previously filled with 5 L of filtered seawater with 9 ppm of erythromycin. The main tank of each *Larvosonic* systems (N = 8) were filled with 10-µm filtered seawater.

Temperature in the room was controlled with a heater at 18 °C ($\pm 0.4^\circ\text{C}$) and a photoperiod of 12:12 h (L:D) was maintained. Food was added once a day at a final concentration of 60 cells. μl^{-1} in the post-larval culture. We included a diet treatment (N = 2, 3 replicates per diet) consisting of a DTCS (*Diacronema lutheri*, *Tisochrysis lutea*, *Chaetoceros neogracilis*, *Skeletonema marinoi*) diet with (DTCS_N+) or without addition (DTCS_N-) of the microalgae *Nannochloropsis oculata* and concentrations were adjusted to maintain a similar biomass in each cylinder. Experiments started at midday by simultaneously reading sound *.wav files according to a 6:6-h or a 19:5-h on/off cycle for pile driving or drilling sounds, respectively (see section III.3.6), and were conducted for 4 days. At the halfway point, batches of post-larvae from each cylinder were collected through a 60- μm square mesh and water and diet were renewed.

II.3.3. Post-larval counting and length measurements

The same method of larvae collection was used at the end of the experiments to collect post-larvae that were rinsed and concentrated in a 300-mL beaker with filtered seawater until sub-sampling. At the end of the experiment, triplicate aliquots of 2 mL were collected from each cylinder and all post-larvae were fixed in 4% formalin before counting and measuring under a microscope (Zeiss Axioscope A1, 20x magnification). The remaining material from each cylinder was filtered on pure borosilicate glass filters (Whatman, grade GF/F, 47 mm, 0.7 μm porosity) and conserved at -80 °C until further lipid analyses (see next section). Empty or perforated shells, as well as abnormal post-larvae were counted and considered as dead. Shell width and length were measured under a microscope equipped with a 10-Mo pixel camera (Moticam 3.0 10+). Several video captures of post-larvae were taken so that the sizes of 75 individuals could be acquired per replicate through the dedicated Motic Images Plus 3.0 software.

II.3.4. Fatty Acid analyses

Food diet, seawater with erythromycin, and post-larvae were filtered onto borosilicate glass filters (Whatman, grade GF/F, 47 mm, 0.7 μm porosity) pre-combusted at 450 °C for 4 h and pre-weighed and the resulting filters were stored at -80 °C. In the laboratory, filters were lyophilized, weighed, and total lipids were extracted as described in Leroy et al. (2013). Before extraction, tricosanoic acid (23:0, representing the number of carbons and the number of double bonds, respectively; see below) was added to every



sample (2 or 3 μm) as an internal standard to allow calculation of the absolute fatty acid concentration. Fatty acids were then identified and quantified by a gas chromatograph (GC, Varian CP-3800) equipped with a flame ionization detector. Fatty acid methyl ester peaks were identified by comparison of their retention time with those of analytical standards (Supelco™ 37, PUFA-1 Marine Source, and Bacterial Mix, Supelco Inc., USA). Additional compounds were identified using a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (GCMS, Varian 450GC with Varian 220-MS) and computed mass spectra were compared to the National Institute of Standards and Technology (2017) library. We report values as percentage of total fatty acids or absolute concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$ or mg g^{-1}). Fatty acids quantified by using the flame ionization detector and the internal standard (23:0), are designated as X:Y ω Z, where X is the number of carbons, Y the number of double bonds, and Z the position of the ultimate double bond from the terminal methyl group.

II.3.5. Statistical analyses

Mean post-larval daily growth rate was calculated by subtracting the mean length of the reference population (34 dpf) from the experimental population of each treatment (38 dpf) and dividing the total by 4 (days). The mortality rate was calculated as the ratio between the number of dead individuals and the total counted individuals.

Statistical analyses were applied per type of sound and the unit of replication was the cylinder (N = 3 per treatment). Ratios and length measurements were compared between treatments (4 levels including a control with ambient sound and two food conditions with or without *N. oculata*) through PERMANOVA analyses, under PRIMER 7 software. Similarities matrices were produced using Euclidean distance and 2-way PERMANOVA were performed with 9,999 permutations of residuals under a reduced model. When differences were significant, multiple comparisons (pairwise tests) were used to determine which of the means were significantly different. Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions were carried out through the PERMDISP procedure to assess variance for each factor (level or diet). The significance value for all analyses was set with a p-value < 0.05.

III. Results

III.1. Larvosonic Acoustics

III.1.1. SPL variability

Within the cylinders, the SPL_{rms} values for white noise recorded at two depths and different horizontal positions were stable and ranged from 144.9 to 147.9 dB re 1 μ Pa. The SPL_{rms} values recorded at the bottom of the cylinder (15-cm depth) were higher than those at the top (5-cm depth), probably due to the direct proximity of the speaker, but the associated frequency spectra were highly similar between recording positions (see supplementary Material 4).

In addition, the SPLs of other tested sounds were often higher in the two cylinders located at the center of the main tank compared to lateral cylinders, with very similar associated frequency spectra (see Supplementary Material 4). The mean SPL_{pp} (\pm standard deviation) of pile driving noise and mean SPL_{rms} of drilling noise received in the two central cylinders were calculated at 166.1 ± 0.3 and 153.1 ± 0.2 dB re 1 μ Pa, respectively, whereas these levels decreased to 159.5 ± 1.0 and 147.4 ± 0.4 dB re 1 μ Pa for the four lateral cylinders, respectively. No significant difference ($p > 0.05$) was found in SPLs between front and back cylinders located at the same central or lateral position. Interestingly, noise levels were higher when adding 1 L of seawater within cylinders (final volume of 6 L) than the mean SPL_{pp} of pile driving, initially equal to 166.4 dB re 1 μ Pa, an increase of 3 dB re 1 μ Pa. Similarly for drilling noise, the mean SPL_{rms} increased from 149.1 to 151.5 to 153.8 dB re 1 μ Pa for 4-, 5- and 6-L water volumes.

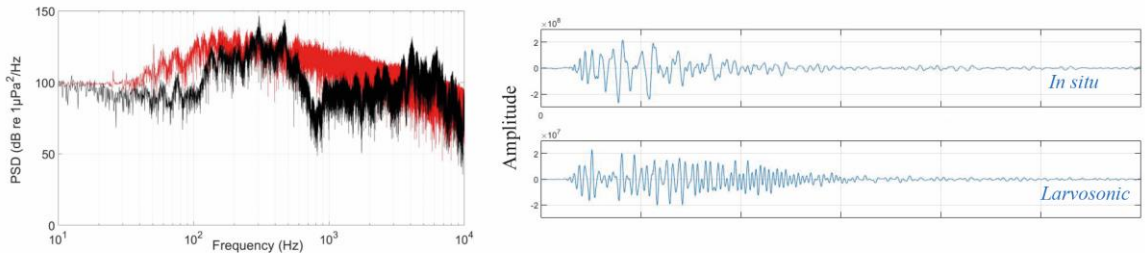
However, in the *Larvosonic*, some low frequencies at 300 and 500 Hz were overexpressed and persisted in time with or without diffusers and their associated sound level was higher in the central cylinders. When considering the chirp recorded in the pool, 300- and 500-Hz frequencies were still overexpressed but not persistent. This phenomenon is consistent with the speaker frequency response, which has peaks at these frequencies, but that does not explain the persistence in the *Larvosonic*. When all *Larvosonic*'s cylinders were removed, the persistence associated with the 500-Hz band disappeared (see black arrows in Figure 26.B, C, and D), which suggests a complex acoustic effect related to the sound interaction with the cylinders. On the other hand, the persistence at 300 Hz did not disappear when cylinders were removed. The origin of the 300-Hz band in the *Larvosonic* is an open question.



III.1.2. Reverberation and spectral analysis

The PSDs of drilling, pile driving (Figure 24), and the four other tested sounds (see Supplementary Material 2) displayed a relative dip at 800 Hz as well as a complex pattern between 2 and 20 kHz, with frequencies between 4 and 6 kHz being overexpressed.

A) Pile driving



B) Drilling

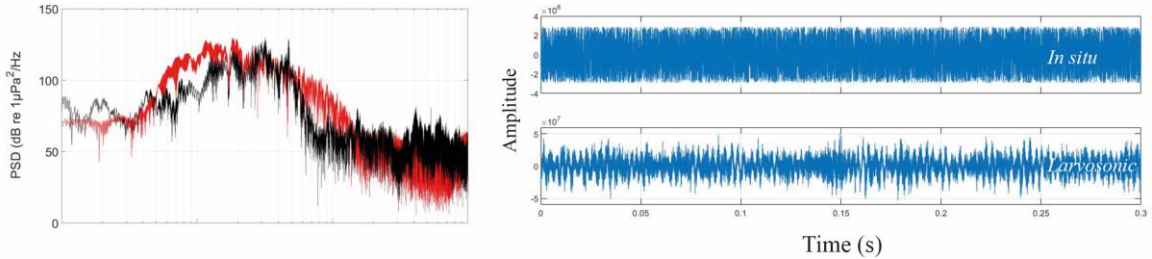


Figure 24: Power spectral densities (PSDs) of in situ recordings (red) and recorded at the center of the Larvosonic system (black) as well as time course during A) pile-driving or B) drilling sound emissions.

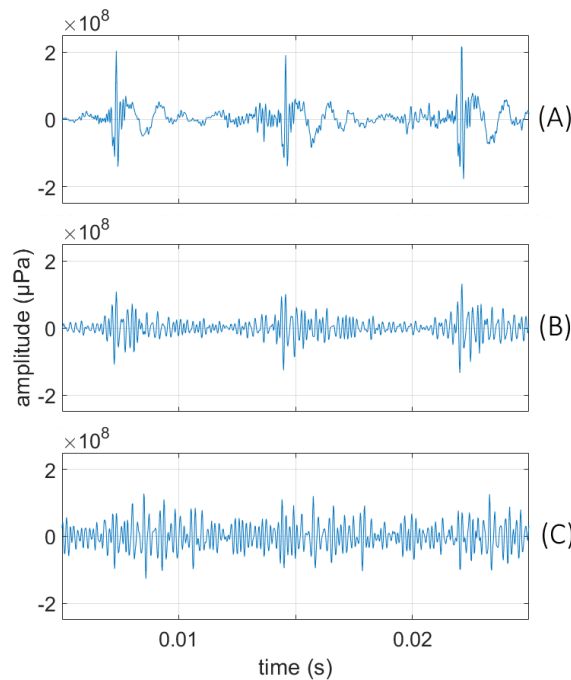


Figure 25: Waveform of a spiny lobster antennal rasps recorded either (A) in situ (Jézéquel et al. 2019) or in the Larvosonic system with (B) or without diffusers (C).

Although the chirp recorded in the large pool matched the shape of the original wav file (Figure 26A), some frequencies from the chirp recorded in the *Larvosonic* were overexpressed and persisted in time without diffusers (Figure 26C) compared to with diffusers (Figure 26B). One must also notice that time course of pile driving signal emitted in the *Larvosonic* differs moderately from what is observed in the field due to speaker limitations (Figure 25A). Because time persistence is typical of resonance phenomena, we compared observed frequencies to those predicted by the theoretical model. We visually identified 10 resonant frequencies (Table 4) and the four most obvious being pointed out in Figure 25C (white arrows). We found that the SPL associated with resonant frequencies varied less between cylinders than for non-resonant frequencies. For example, the SPL_{rms} values at 1,000 and 1,200 Hz (non-resonant frequencies) were 5.3 dB and 8 dB higher, respectively, in central cylinders than the lateral cylinders, whereas SPL_{rms} values for resonant frequencies (Table 4) varied little (from 0.1 dB to 3.8 dB) between all cylinders. The positive role of our diffusers in reducing resonant effects in the *Larvosonic* was particularly evident on impulsive sounds (which are highly impacted by persistence), for which the diffusers decreased the amplitude of reverberation-generated oscillations that can be observed after the impulsions (Figure 25). We also noticed that diffusers reduced low-frequency (below 50 Hz) background noise (see Figure 26).

Table 4: Summary of the resonant frequencies observed on the chirp (Fig. 2) recorded in the *Larvosonic* system, and associated theoretical resonant frequencies obtained from Novak et al. (2018) theoretical model.

Notation	Mode	Observed frequency (Hz)	Theoretical frequency by Novak (Hz)
f_1	(1,1,1)	1435	1436
f_2	(2,1,1)	1679	1713
f_3	(1,2,1)	1920	1970
f_4	(3,1,1)	2050	2095
f_5	(2,2,1)	2123	2181
f_6	(1,1,2)	2343	2357
f_7	(3,2,1)	2455	2492
f_8	(1,3,1)	2628	2630
f_9	(2,3,1)	2790	2790
f_{10}	(3,3,1)	3021	3040

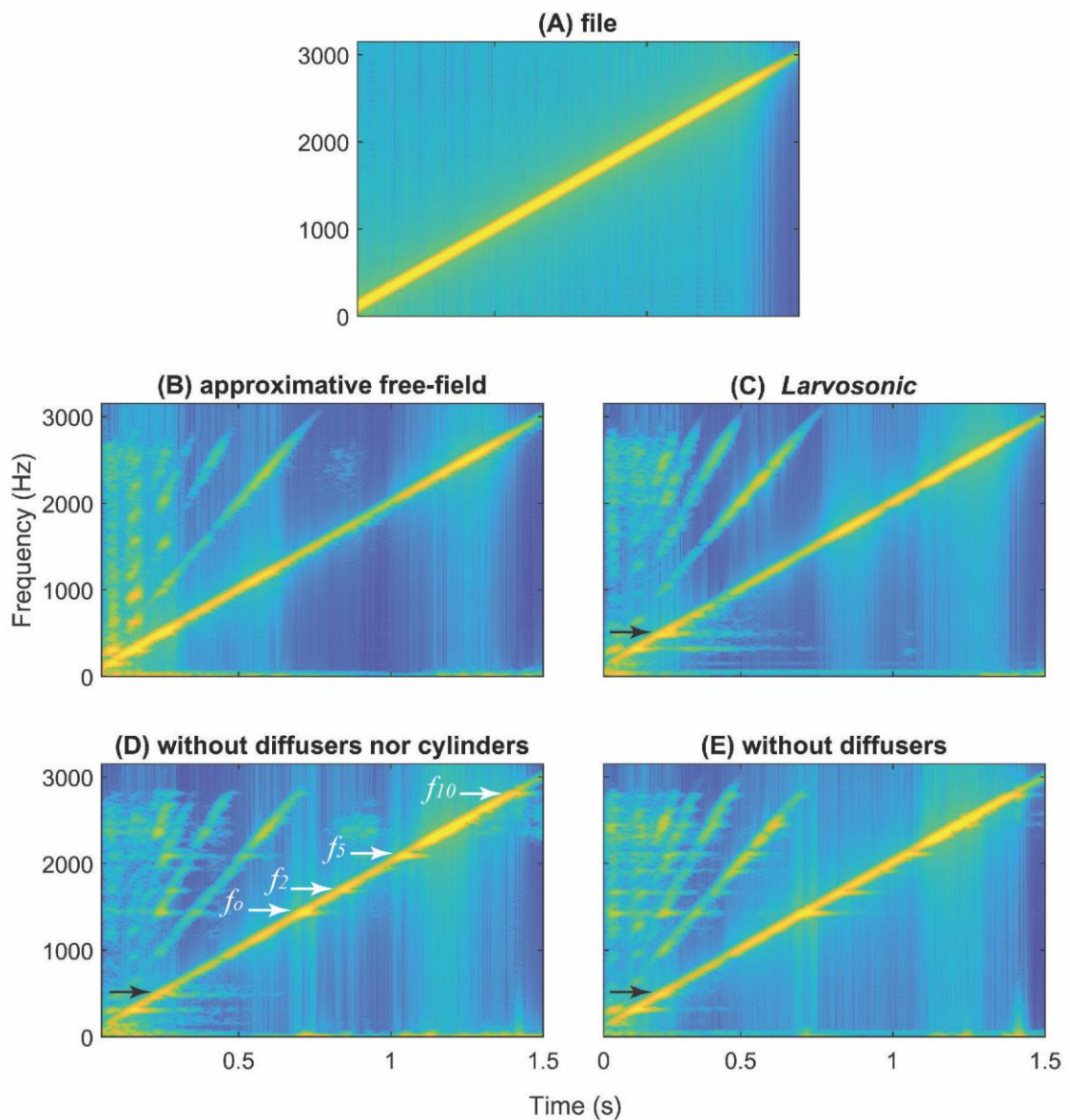


Figure 26: Spectrograms of the chirp recorded either in a large pool (A) or in the *Larvosonic* system including all components (B) or without diffusers (C) and without diffusers nor cylinders (D). (Sampling frequency = 44.1 kHz, FFT size = 3000; hamming window = 47 ms; 99% overlap) The chirp swept linearly from 20 Hz to 10 kHz over a 5s-period. White arrows indicate the 4 most obvious resonant frequencies identified. Black arrows indicate the 500-Hz persistent band in (B) and (C) which disappears when removing cylinders in (D) and does not exist in the large pool (A).

However, in the *Larvosonic*, some low frequencies at 300 and 500 Hz were overexpressed and persisted in time with or without diffusers and their associated sound level was higher in the central cylinders. When considering the chirp recorded in the pool, 300 and 500 Hz frequencies were still overexpressed but not persistent. This phenomenon is consistent with the speaker frequency response, which has peaks at these frequencies,

but that does not explain the persistence in the *Larvosonic*. When all *Larvosonic*'s cylinders were removed, the persistence associated with the 500-Hz band disappeared (see black arrows in Fig. 2B, C, and D), which suggests a complex acoustic effect related to the sound interaction with the cylinders. On the other hand, the persistence at 300 Hz did not disappear when cylinders were removed. The origin of the 300 Hz band in the *Larvosonic* is an open question.

III.1.3. Kinetic Energy (KE) versus Potential Energy (PE)

In each frequency band, the sound level (SL) decreases by about 1 dB when the signal number increases, resulting in an overall ~ 4 dB decrease from signal 1 to 5 (Figure 28, left panel). For the two receiver locations, both PE and KE decrease in the very same way, with an overall decrease of ~ 4 dB from signal 1 to 5 (Figure 28, middle and right panels). Furthermore, the difference between KE and PE relates either on frequency for a given source location or for a given frequency on source location. As expected, the acoustic impedance (PE/KE in dB) calculated at a given frequency and one of the two measurements locations is constant (independent from source level) but it drastically changes with location and/or with the frequency considered (Figure 27). All the measurements show also consistently negative impedance traducing that $KE \gg PE$ (Figure 28).

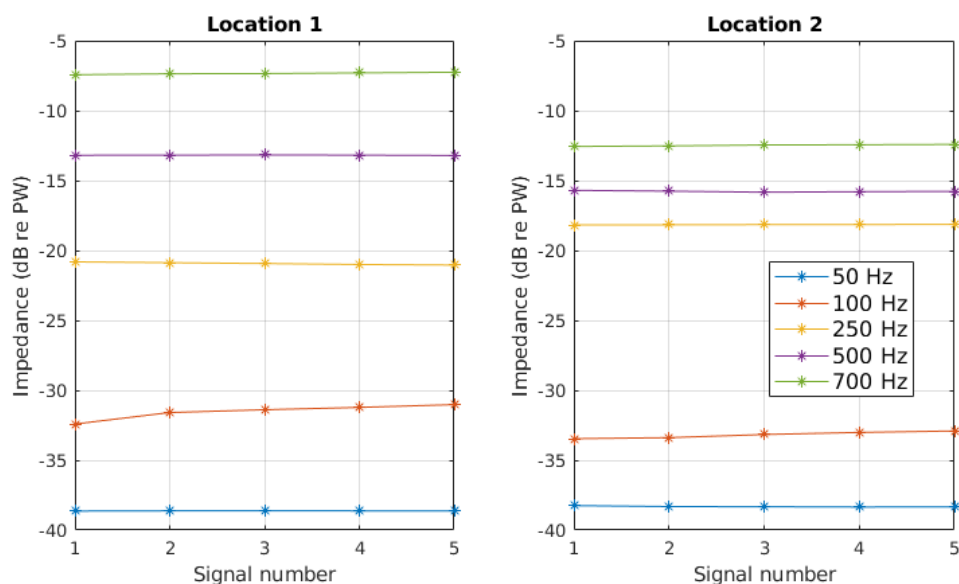


Figure 27: Acoustic impedance as measured at two different positions in the tank. Note that the impedance is given in dB relative to Plane Wave propagation, i.e. 0 dB means that $PE=KE$, as is the case for a plane wave.

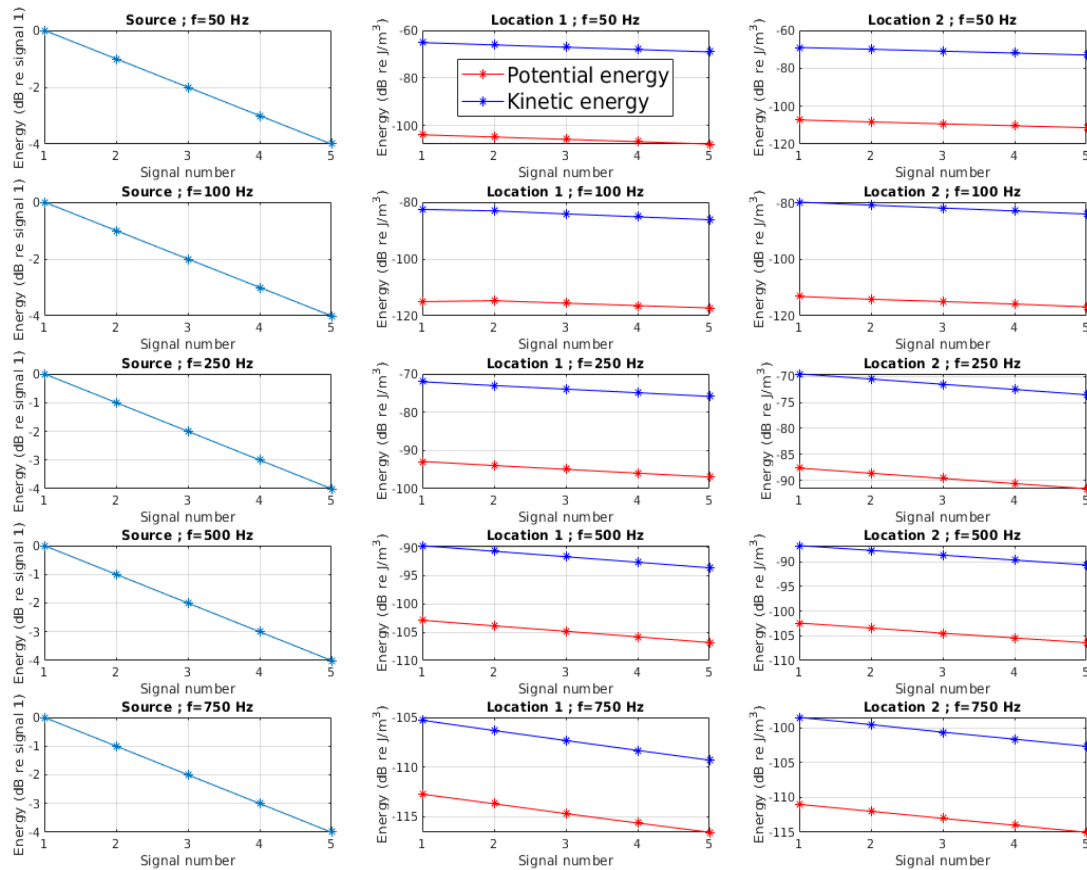


Figure 28: Signal energy at the source and received at two different positions in the tank. Note that the energy of the source signal is given on a dB scale referenced to the energy of the first signal.

III.2. Impact of pile-driving and drilling sounds on *P. maximus* post-larvae

III.2.1. Pile driving (P) and drilling (D) acoustic treatments and ambient noise

The PSDs of pile driving and drilling noise recorded in the *Larvosonic* were in accordance with the original wav files (Figure 24), although some frequencies between 50 and 200 Hz and at 1 kHz were under expressed. During experiments, SPL levels (pp or rms; \pm standard error) were adjusted and the mean values in the six associated cylinders as well as SEL calculated on 24h are detailed in 3. Based on the original *in situ* sound recordings, we hypothesized of *in situ* emitting source levels of either 172 dB (Drilling D0) or 221 dB re 1 μ Pa (Pile-driving P0) and of losses of propagation of $15 \cdot \text{Log}_{10}$ (distance in m) (intermediate model between spherical and cylindrical models of TL), the

estimated distances from the source for drilling treatments corresponded to ~21,500, ~1,000 and <1m for D1, D2 and D3 treatments, respectively. For pile driving treatments, distances corresponded to ~78,500, ~3,900 or 169 m for P1, P2 and P3, respectively. Note that P3 and D3 levels correspond to the maximal attainable values that the AQ339 speaker can produce.

III.2.2. Survival and growth rates

Survival rates of scallop post-larvae were very high in both pile driving (mean 99.18 ± 0.13 %) and drilling (mean 98.21 ± 0.19 %) experiments. No significant difference in survival rate was detected between the four conditions of each sound ($p = 0.77$ and $p = 0.41$ in pile driving and drilling experiments respectively), without any diet effect ($p = 0.22$ and $p = 0.72$ in pile driving and drilling experiments, respectively). Daily growth rate (GR) of post larvae was significantly different ($p = 0.043$) between the two diet conditions in the pile driving experiment. Growth rate was 7.2% higher in the DTCS+N group (mean $5.07 \pm 0.21\%$ /day) than the DTCS-N group (mean $4.73 \pm 0.20\%$ /day) (Figure 29). In contrast, growth rate was not affected by diet ($p = 0.49$) in the drilling experiment. Significant differences ($p = 0.022$) were detected between sound treatments in the drilling experiment. D3 growth rate (mean $3.94 \pm 0.26\%$ /day) was 30.6% higher than C and D1 conditions (mean $3.01 \pm 0.18\%$ /day) with an intermediate value for the D2 treatment (mean $3.61 \pm 0.26\%$ /day) (Figure 29). In contrast, no sound effect was found for the pile driving experiment ($p = 0.158$).

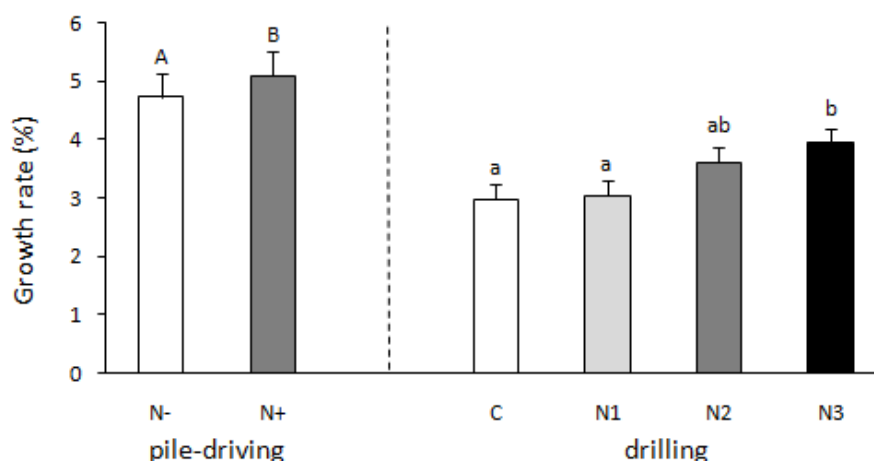


Figure 29: Mean growth rate (%/day) of post-larvae exposed to two diets (with + or without - *Nannochloropsis*) or four intensities of drilling (C is the control without sound emission, N1 received a sound level like heard at 2500m of drilling, N2 correspond to 250m and N3 to 25m). Groups annotated with the same letter do not differ significantly at p -value < 0.05.



III.2.3. Total content and relative contributions of fatty acids in larvae

A total of 47 fatty acids were detected in our samples, with 18 of them reaching more than 1%. Collectively, these fatty acids contribute to 91.95% of the total fatty acids (Supplementary Material 5). Dominant fatty acids were 16:0 ($14.50 \pm 0.44\%$), 22:6 ω 3 ($12.67 \pm 0.69\%$), and 20:5 ω 3 ($11.9 \pm 0.40\%$). We also detected elevated proportions of 16: ω 7 ($8.39 \pm 0.19\%$), 18:1 ω 7 ($7.69 \pm 0.17\%$), 18:0 ($6.19 \pm 0.15\%$), 18:1 ω 9 ($5.52 \pm 0.09\%$), and 14:0 ($5.24 \pm 0.16\%$). The PERMANOVA analysis did not show any significant difference between fatty acids profiles for sound ($p = 0.9777$) or diet ($p = 0.5475$), but indicated strong differences ($p = 0.0021$) between the reference group collected the first day of the experimentation and the tested group collected 4 days after. A Simper analysis revealed that the fatty acids responsible from 50% of the difference between the two groups are 22:6 ω 3, 18:4 ω 3, 20:5 ω 3, 16:0, and 18:0 (see Supplementary Material 6). When considering the total fatty acid concentrations, pile driving sonorous and control groups do not differ ($p = 0.08731$; mean = $274 \pm 7 \text{ mg.g}^{-1}$). However, drilling had a negative impact ($p = 0.015$) on total fatty acid concentration with mean value for control ($317 \pm 10 \text{ mg.g}^{-1}$) significantly larger than the mean value for drilling ($280 \pm 5.6 \text{ mg.g}^{-1}$). The PERMANOVA analysis did not show any significant impact of the diet on total fatty acid concentration ($p = 0.6283$; mean = $286 \pm 6 \text{ mg.g}^{-1}$).

IV. Discussion

We here propose a new laboratory tool, the *Larvosonic* system, to quantify the effects of anthropogenic noise on larval and peri-metamorphic stages of marine invertebrates subjected to accurate acoustic conditions. The development of such a standardized experimental mesocosm is necessary for comparison and translation of results arising from different marine laboratories worldwide.

To decipher the complex processes involved in the recruitment of benthic invertebrates, ecologists in the early 1960's developed experimental approaches in the field, studying settlement of barnacle larvae through the use of panels deployed on rocky shores (Crisp and Barnes, 1954), and in the laboratory, and studying settling larvae of bivalve in tanks (Bayne, 1969). For more than half a century, a plethora of scientific articles has been produced on the various environmental abiotic and biotic cues involved

in pre-settlement, settlement and post-settlement processes (but see Olivier et al., 2000 for references on *Amphibalanus amphitrite*).

IV.1. Previous experimental work to assess noise impact on larval stages of invertebrates

With the exception of the sole work of Branscomb and Rittschof (1984) who tested the influence of narrow-band low-frequency sound on cyprid settlement, research conducted in the laboratory that focuses on the impact of natural or anthropogenic sounds on recruitment has been published only recently, beginning in the 2010's (but see details in Supplementary Material 1). Our analysis of the listed studies revealed several similarities in the experimental designs adopted that could induce potential bias and thus restrict any generalization of the results to natural populations in the field. One obvious problem is that replicates of larval samples consist of small-volume (< 100 mL) containers - flasks, petri dishes, or even tissue culture plates filled with filtered seawater arranged in water baths systems of various dimensions. As a result, larval samples used for experiments do not exceed 100 individuals and often are limited to less than 10 (sometimes limited to one), clearly restricting the possibility of fatty acid analyses for most invertebrate species requiring a minimum of biological material. For hatching larval stages of cephalopods, however, the size is much larger during the pelagic phase (mantle length up to 9 mm for *Loligo forbesii*; Villanueva et al., 2016). In such case, the *Larvosonic* system would be appropriate to test individual responses to sound, including behavioral and lipid/physiological analyses.

Few works include acoustic measurements where the hydrophone is placed within the experimental container, except Guo et al. (2012), who measured the pressure 0.5 mm above the bottom of a 20-mm diameter glass vial through a 1-mm diameter needle hydrophone (Precision Acoustics, UK). However, the considered frequencies (23, 63, 102 kHz) were such that the wavelengths (about 65, 23, and 15 mm) were smaller than the water vial. In this context, assuming an acoustic point source, the sound field is known to decay exponentially from the source (Rogers et al., 2016), so that the acoustic dose received by an animal depends heavily on his location within the vial. For a more complex sound system, as seems to have been used by Guo et al. (2012), the variability of the sound field within the vial remains an open question.



To avoid density-dependent effects that express a threshold above 1 larva.mL⁻¹, some authors have increased the volume of experimental containers to 250–750 mL, a compromise between the number of replicates and the space available in the water bath (Pine et al., 2012, 2016; Stanley et al., 2012, 2015) and also a method to investigate responses of large larval populations to sound (Jolivet et al., 2016). Again, recording sound in the experimental containers is not common and most studies provide only sound characteristics of the main water bath tanks without any detail on the spatial heterogeneity that could occur in the containers (see Supplementary Material 1 for details).

At the extreme range of volume of experimental containers, the studies of Solé et al. (2018), which are based on the protocol detailed in Solé et al., (2013), involve three tanks of 2 m³. One tank maintains a batch of test organisms (adult stages of either cephalopods or Scyphozoan medusae); one tank is used for exposure of the same whole batch to sound; the last tank allows sequential sampling of the exposed individuals to assess latent impacts of sound on statocyst sensory epithelium. We note that such an experimental design based on a limited number of large tanks generates pseudo-replication (Hurlbert, 1984) because independence between replicates is not satisfied (here sequentially samples of several adults located in the last tank). Using a water bath experimental design, the *Larvosonic* system satisfies a true independence between replicates and the much larger volume of the containers (5-L cylinders) allows the use of large batches of larvae (up to 50,000 individuals) as well as measurements within the experimental containers, while limiting reverberation and spatial heterogeneity of sound emission between them. Care should however be taken during experiment to compare noise treatments with a level difference higher than 3dB to avoid bias related to inter-cylinder (internal vs external) sound level heterogeneity.

IV.2. *Larvosonic* mesocosms: less reverberation and homogeneous sound diffusion

Understanding the whole frequency performance of the *Larvosonic* system is crucial because few previous studies have claimed that acoustic impacts on fauna, including invertebrates, are nearly independent of SPLs, but rely more on the frequency content (Pine et al., 2016). Within this context, research focusing on anthropogenic noise

in marine organisms requires accurate reproduction of the frequency spectra of the sound(s) from *in situ* recordings. Doing so in a tank requires an accurate model of the sound field in the tank, and/or a complete experimental characterization of the sound field. In this research, we assess the sound speed variability inside the *Larvosonic*, and demonstrate that the main features of this variability (e.g., resonant frequencies) can be predicted accurately by an acoustic model.

Whereas most bioacoustic studies have included only one tested signal (Jones et al., 2019), we used a diversity of sounds to assess acoustic responses of the *Larvosonic* system. Using a chirp sound, we identified the resonant frequencies, which were confirmed by theoretical models. Spiny lobster sound was useful to assess the temporal effect of reverberation on broadband and transient sound. In addition, both sounds were useful to highlight reverberation and the efficiency of diffusers to reduce it. Different absorptive materials have been tested for this purpose, including “horse hair” and sand or air-filled bubbles (*in* Popper and Hawkins, 2018), but their effectiveness was largely insufficient (Rogers et al., 2016). Built-in expanded polystyrene, designed to provide absorption and multi-reflection of sound in air, the Vicoustic diffusers and bass trap components constitute effective underwater sound absorbents that reduce the reflection of the whole frequency bandwidth and thus should be prioritized in future bioacoustic systems.

IV.3. Anthropogenic impacts on *Pecten maximus* recruits

Survival rates of post-larvae of the bivalve *P. maximus* were very high and not influenced by any of the noise treatments during 4 days in the *Larvosonic* system. By contrast, both type and level of the emitted pile driving and drilling noises induced complex effects on post-larval growth, with interactive impacts between the trophic environment and noise level/spectra. This result is consistent with Jolivet et al. (2016), who also emphasized interactive impacts of boat noise and diet (with or without *N. oculata*) on the settlement rates of the blue mussel *M. edulis*. Our data provide evidence that 1) pile driving noise had no effect on daily rate of shell growth or total fatty acid concentrations, 2) the highest level of drilling noise (D3) significantly increased the daily




rate of shell growth and diminished the total fatty acid concentration. These results demonstrate the potential contrasting impact of impulsive versus continuous noise on benthic organisms, as shown by Solan et al. (2016) on the bio-irrigating and bioturbation behaviors of adults of the warty clam *Ruditapes philippinarum*. Further interpretation of the influence on growth and lipid content is speculative because physiological parameters and clearance rates were not monitored during the experiments.

IV.4. The Larvosonic system, an efficient tool that can be improved

Characterization of the acoustics of the *Larvosonic* system has raised some limitations and overexpression of particular frequency bands that could be solved in the future. We have detected one 500-Hz band persisting for almost 0.7 s in the frequency spectrum only when all cylinders were settled in the *Larvosonic* system. This illustrates how the fine-scale geometrical shape within a tank may produce resonant frequencies lasting over a long period. By contrast, the 300-Hz band observed in the *Larvosonic* system disappeared when we made recordings in the pool. We do not know the origin of this band, but we hypothesize it could be linked to an unknown vibration of the *Larvosonic*'s aluminum frame. Overexpression of the resonant frequencies could be compensated by reducing their level at the source. Also, other diffusers with various textures, materials, and thickness, as reviewed in Fu et al. (2021), could be used to further mitigate the reverberation. Our study considers a single speaker whose broadband frequency response is not flat. In the future, one speaker could be replaced by several speakers dedicated to specific frequency bands, in order to create a source emission system with a frequency response as flat as possible (as is done commonly for music speakers).

Sound detection abilities in marine invertebrate larvae are poorly known compared to fish larvae (Simpson et al., 2005). Because these organisms do not possess any gas-filled organs (such as the swim bladder in fish), they likely respond to particle motion rather than sound pressure (Popper and Hawkins, 2018). Given that pressure and particle motion are usually not related linearly, a careful calibration of particle motion of the *Larvosonic* system would be required to assess absolute impact threshold. With a



calibrated vector sensor, we have illustrated here that a single measure of impedance is useless and can be misleading because it has to be measured at every location occupied by animals under study (here post-larvae < 1 mm). The negative impedance always observed in the *Larvosonic* is a known property of the acoustic field for measurements performed in a tank when considering frequencies that are lower than the first cutoff frequency of the tank (Duncan et al., 2016 ; Rogers et al., 2016). Alternatively, a small number of impedance measurements can be used to calibrate a numerical model, which in turn can be used to forecast impedance in the whole tank. When not done, it is better to stay away from absolute impact threshold and to work on relative trends. Whether using pressure or particle motion, the system demonstrates how impact evolves when source level (and thus both received pressure or motion) increases by a certain amount of dB: both pressure and particle velocity decrease by exactly the same amount. As a result, pressure-only measurement can be used to assess impact trends – even for animals that exclusively sense particle motion.

As pointed out by Hawkins et al. (2020), there is actually no standardization in the bioacoustics community '*both from the perspective of acoustic setup and behavioral methodology*'. We believe that future research focusing on the impact of noise pollution on marine invertebrates can be enhanced by improving the experimental designs (using dedicated mesocosms, avoiding pseudoreplication) so that acoustic conditions experienced in nature by young stages can be replicated accurately. The careful determination of impact threshold in terms of particle motion requires 1) the use of calibrated vector sensor (which are difficult to procure), 2) a full acoustic characterization of the mesocosm under study (which can be done using a combination of empirical measures and numerical models) and 3) a method to assess the variability of larval responses to sound, for which the *Larvosonic* system could be used.

A set of four *Larvosonic* system allowing multiple experimental designs can be built in less than two months by companies using PMMA material for construction applications. Its costs of ~20k€ make it constitute a quite affordable solution for multiple experimental projects conducted on several years. When possible, we also recommend to develop in parallel to *Larvosonic* studies additional *in situ* experiments with 'natural' anthropogenic sources as the time course of some very fast impulsive noises may be poorly simulated by the actual characteristics of underwater speakers.



Acknowledgement

We deeply thank Florian Breton and his team of the Tinduff hatchery for their support during the experiments and for providing us post-larvae of *Pecten maximus* scallop. Thanks to Sebastien Hervé for creating the schematic 3D drawing of the *Larvosonic* system. Friendly thanks to Réjean Tremblay from the UQAR/ISMER for providing previous valuable advices on the experimental design and to and Gauthier Cervello for helping Mathilde Gigot during experiments. Many thanks to Pascal Coince for preparing and providing raw data of the Sercel vector sensor. Special thanks to Peter Dahl for helpful discussion on particle motion.

Funding

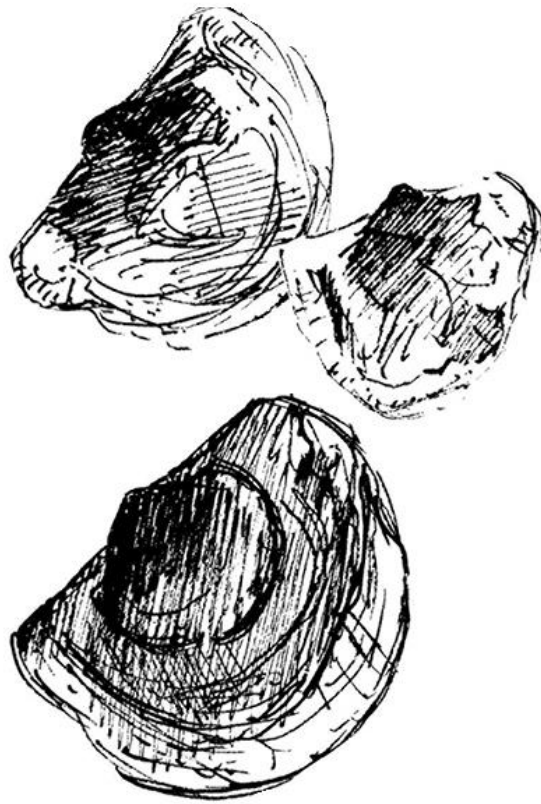
This work was a part of the PhD of Mathilde Gigot funded by the CNRS/LIA BeBEST. Additional funding was provided by Ailes Marine through the IMPAIC ('*IMPacts Acoustiques sur les Invertébrés de la baie de Saint-Brieuc*') program. This study is a contribution to the BeBEST2 International Research Laboratory (UBO, UQAR, CNRS, and MNHN).

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no financial interests or personal relationship that could have influence this work.

Data statement

Original data are available on demand to the corresponding author.



© Liz Hascoët / Fovearts

Chapitre 2:

Pile driving and drilling
underwater sounds
impact the metamorphosis dynamics
of *Pecten maximus* (L., 1758) larvae



Synthèse

Dans le chapitre 1, nous avons montré que notre dispositif expérimental était adapté à l'exposition de larves à des sons anthropiques. Nous l'avons donc utilisé dans ce deuxième chapitre pour tester l'impact des sons de battage et de forage sur les larves de coquilles Saint-Jacques.

Nous nous sommes intéressés au stade pédivéligère qui est un stade crucial dans le développement des bivalves. En effet, à ce stade, la larve devient compétente, c'est-à-dire qu'elle devient physiologiquement capable de se fixer et d'entamer sa métamorphose. Elle acquiert un pied qui lui permet de prospecter sur le substrat et de sélectionner un lieu optimal. Pour cela elle intègre de nombreux paramètres dont la texture, la composition chimique, la présence de biofilm, l'hydrodynamisme de surface ou les vibrations. La larve est aussi sensible à la qualité trophique du milieu en terme de quantité et de qualité de microalgues présentes. Enfin, des études montrent que le paysage acoustique modifie également la dynamique de fixation. Nous avons donc mené une expérience de quatre jours pour mesurer l'interaction entre le son et l'alimentation sur le processus de métamorphose des larves pédivéligères. Nous avons distribué deux rations alimentaires à nos lots de larves : une avec et une sans la microalgue *Nannochloropsis occulata*.

Les taux de mortalité dans nos bassins étaient très bas, ce qui confirme l'observation faite dans le chapitre 1 que le *Larvosonic* est adapté à l'exposition de larve. Nous avons mis en évidence que la modification de l'alimentation induit de faibles variations du taux de croissance sans altérer la métamorphose. Les analyses biochimiques n'ont pas montré de différence dans le profil lipidique des larves. Il semblerait que cette microalgue ne soit pas assimilée par les larves de coquilles Saint-Jacques et que sa présence ne soit pas un déclencheur de métamorphose comme elle l'est chez la moule bleue. De plus, il n'y a pas d'interaction entre les facteurs trophique et acoustique.

Nous avons montré que le battage de pieu stimule la croissance et la métamorphose tandis que le forage réduit la survie, la métamorphose et le taux de filtration. Le niveau de son module la réponse des larves mais de façon non linéaire. Les



effets contrastés entre les deux sons pourraient être dus à la différence temporelle entre le battage impulsif et le forage continu, à leurs rythmes d'émission (on : off) différents ou à leurs contenus fréquentiels qui ne sont pas tout à fait identiques. Mais surtout, ces modifications de la métamorphose peuvent avoir des répercussions sur la suite du cycle de vie. En effet, si la larve ne rencontre pas les conditions optimales à sa fixation, elle a la capacité de retarder sa métamorphose jusqu'à un certain point où ses réserves énergétiques sont trop basses et où elle se fixe en dernier recours, même dans un environnement défavorable. Ce concept écologique est appelé théorie de la larve «désespérée». Dans la perspective de nos résultats, le forage pourrait prolonger la phase pélagique et pousser les larves à un comportement «désespéré». A l'inverse, le battage de pieu pourrait induire la larve en erreur dans le choix de son site de fixation et compromettre ainsi ses chances de survie dans un milieu défavorable.

Pour la première fois, nous avons montré que la pollution sonore engendrée par les chantiers offshore peut moduler le développement larvaire et le processus de recrutement. En augmentant ou réduisant la sélectivité des larves, les bruits anthropiques peuvent réduire drastiquement leur survie jusqu'au stade adulte et donc le renouvellement de la population.



Pile driving and drilling underwater sounds impact the metamorphosis dynamics of *Pecten maximus* (L., 1758) larvae

Mathilde Gigot^{1*}, **Frédéric Olivier**², **Gauthier Cervello**³, **Réjean Tremblay**³,
Delphine Mathias⁴, **Tarik Meziane**², **Laurent Chauvaud**¹, **Julien Bonnel**⁵

In revision in *Marine Pollution Bulletin*

¹ Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR) UMR 6539
UBO/CNRS/IRD/Ifremer, rue Dumont D'Urville, 29280 Plouzané, France

² Biologie des Organismes et Écosystèmes Aquatiques (BOREA) UMR 8067 MNHN,
CNRS SU, IRD 207, UCN, UA, 61 Rue Buffon CP 53, 75005 Paris, France

³ Institut des Sciences de la Mer, Université du Québec à Rimouski, 310 Allée des
Ursulines, Rimouski, Québec G5L 2Z9 Canada

⁴ Société d'Observation Multi-Modale de l'Environnement, 115 Rue Claude Chappe,
29280 Plouzané, France

⁵ Woods Hole Oceanographic Institution, Applied Ocean Physics and Engineering
Department, Woods Hole, MA 02543, USA



Abstract

One of the biggest challenges of the 21st century is to reduce carbon emissions and offshore wind turbines seem to be an efficient solution. However, during the installation phase, high levels of noise are emitted whose impacts remain not well known, particularly on benthic marine invertebrates displaying a benthic-planktonic life-cycle. For one century, larval settlement and subsequent recruitment has been considered as a key topic in ecology as it determines largely population renewal. Whereas several recent studies have shown that trophic pelagic but also natural soundscape cues could trigger bivalve settlement, the role of anthropogenic noise remains poorly documented. Therefore, we conducted experiments to assess potential interacting effects of diet and pile driving or drilling sounds on the great scallop (*Pecten maximus*) larval settlement. We demonstrate here that pile driving noise stimulates both growth and metamorphosis as well as it increases the total lipid content of competent larvae. Conversely, drilling noise reduces both survival and metamorphosis rates. For the first time, we provide evidence of noise impacts associated to MREs installation on *P. maximus* larvae and discuss about potential consequences on their recruitment.

Keywords

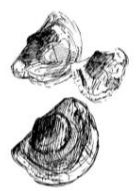
Anthropophony, wind turbine, *Pecten maximus*, larval settlement, metamorphosis trigger, recruitment.



I. Introduction

Ambient noise level of the global ocean is highly correlated with anthropogenic activities, especially maritime traffic (McKenna et al., 2012). Between 1950 and 2007 in the north-east Pacific ocean, noise level in the 25-50 Hz frequency band has increased by 19 dB re 1 μ Pa, corresponding to more than a two-fold increase (3.3 dB) per decade (Chapman and Price, 2011; Frisk, 2012; Tougaard et al., 2009). More recently, because global warming has raised awareness about reducing carbon emissions by decreasing the use of fossil fuels, there is a crucial need to favor renewable electricity production. Among Marine Renewable Energy systems (MREs), the offshore wind turbines appear to constitute a valuable option, as their performance are greater than onshore units (load factor 51% vs 29% in 2020 for European waters installations; *World Energy Outlook*, 2021) and because there are fewer usage conflict than for terrestrial development. Number and size of offshore wind farms has grown around the world by a mean 22% per year, with 70% of total global installations in European waters (Lee and Zhao, 2021) and global capacity could increase 7 fold by 2030 (*Global Offshore Wind Report 2021*).

When functioning, wind farms generate moderate sound levels, only detectable over underwater ambient noise below 500 Hz (total root-mean-square Sound Pressure Level $SPL_{rms} = 109-127$ dB re 1 μ Pa @20m; Tougaard et al., 2009). By contrast, operations associated with the building phase introduce powerful low-frequency noises (20 to 1000 Hz; (Greene, 1987; Norro et al., 2013) in shallow water coastal environments, mainly due to pile driving and drilling activities. High-amplitude sound pressure at low frequencies radiates in the water away from the pile and can propagate over kilometers (Amaral et al., 2020; Bailey et al., 2010; Dahl et al., 2015; Robinson et al., 2013). The pile driving noise is defined as impulsive and includes a short sound with high peak pressure amplitude followed by a fast decay and its spectrum is broadband with most energy below 1 kHz (Leunissen and Dawson, 2018). Impulses are characterized by peak-to-peak sound pressure level (SPL_{p-p} in dB re 1 μ Pa) relative to the distance from the source. As an illustration, Robinson et al. (2013) report a SPL_{p-p} of 205 dB re 1 μ Pa @ 100 m for a 1.8 m diameter pile at 14.5-51.4 m water depth. By contrast, drilling operations produce a continuous broadband sound, with high energy between 100 Hz to 10 kHz (Kyhn et al., 2014). Continuous sounds are characterized by root-mean-square sound pressure level (SPL_{rms} in dB re 1 μ Pa) relative to the distance from the source. As



examples, Kyhn et al. (2014) give a $SPL_{rms} = 184$ dB re $1 \mu Pa$ @ 1m for drilling operations and Blackwell et al., 2004 give a maximum $SPL_{rms} = 184$ dB re $1 \mu Pa$ @ 1km. Various foundations structures exist according to the water depth and bottom nature. Depending on the number and the diameter (0.5 to 6.5 m) of piles that are simultaneously used, on the input of energy, and on the properties of the seabed (hard vs soft bottoms), characteristics and level of the sound emitted vary a lot (Vardhan et al., 2009). Jimenez-Arranz et al. (2019) report a $SPL_{rms} = 193.3$ dB re μPa @ 1 m resulting in a $SPL_{rms} = 118$ dB re μPa @ 1 km for drilling operations on semi-consolidated sediment bottom at 2.5-3.5 km water depth. The existing mitigation criterias focus on Sound Exposure Level (SEL) that must not be exceeded. SEL is a cumulative measure of the acoustic energy received by an animal for an extended period and it takes account of the SPL, the rhythm, and the duration of the sound.

Wind farms usually settle in shallow coastal areas (59 km from the coast for 2019 European constructions, (Ramirez et al., 2020) which considerably overlap with high biodiversity and fishing areas, inducing usage conflicts (Gill, 2005). If the sensitivity of marine mammals and fishes to sound has been studied for decades, focus on marine invertebrates is much more recent (reviewed in de Soto, 2016, Hawkins and Popper, 2017) with only few studies involving bivalve species. The effect of pile driving and drilling on mollusk assemblages has to be explored because of ecological and socio-economic impact (Smaal et al., 2019) as bivalves represent an important economic value (Dame and Olenin, 2005; McKindsey et al., 2011). Moreover, as primary consumers in food webs, filter-feeding bivalves constitute a key link between phytoplankton and bottom-dwelling communities (Bridier et al., 2021; Prins et al., 1998). They improve water quality through biofiltration of organic matter, bacteria and viruses, and reduction of turbidity, increasing light availability (Shumway et al., 2003). Population renewal of those precious bivalves largely depend on recruitment process so in a context of extensive wind farm development, there are growing issues about the potential vulnerability of larval stages to pile driving and drilling sounds.

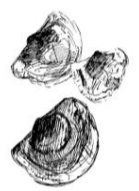
The present study focus on a commercially important bivalve species distributed on the Atlantic European coasts, the Pectinid *Pecten maximus*. As 70% of the temperate and tropical benthic mollusks, *P. maximus* displays a biphasic life-cycle (Thorson, 1950) including early free swimming veliger larvae that develop into a competent pediveliger



stage. Once competency acquired, larvae are physiologically capable of settling onto a substrate and to metamorphose (Hadfield et al., 2001; Pechenik and Heyman, 1987) into a benthic post-larvae, and further juveniles and adults. When competent, pediveliger larvae prospect directly on the seafloor (Bayne, 1965) and they are able to select habitat upon texture features (Le Tourneux and Bourget, 1988), chemical composition (Galley et al., 2017; Yvin et al., 1985), natural biofilms (Hudon and Bourget, 1981; Leyton and Riquelme, 2008; Toupoint et al., 2012), vibrations (Branscomb and Rittschof, 1984, review in Legg et al., 2015), or near-bottom hydrodynamics (Tremblay et al., 2020). As larvae disperse over kilometers, other long-range environmental cues drive the choice of a quality habitat. Among others, sound could be a broad-scale environmental signal for the recruitment of many larvae. Recent evidence has been made that those bivalve larvae are sensitive to natural sound cues. *Magallana gigas* larvae increase swimming activity in response to natural reef sound (Stocks, 2012) as well as natural oyster reef sound stimulates the settlement of oyster larvae in the field (Lillis et al., 2013) or laboratory experiments (Eggleston et al., 2016). Lillis et al. (2014) hypothesized that acoustics signals could facilitate larval orientation to an appropriate habitat where transition to adult life can be achieved and to maximize performance, survival, and reproduction. Larvae respond also to anthropogenic sound, like vessel noise which increases mussel settlement (*Perna canaliculus*, Wilkens et al., 2012 ; *Mytilus edulis*, Jolivet et al., 2016), or seismic pulses that delay *Pecten novaezelandiae* development (Aguilar de Soto et al., 2013).

Since the last decade, several authors have shown that pelagic food quality and quantity play a major role in bivalve recruitment, especially high levels of phytoplanktonic pulses that strongly trigger settlement ('Trophic settlement trigger' TST) (Androuin et al., 2022; Toupoint et al., 2012). However trophic and acoustic cues may interact as evidenced by Jolivet et al. (2016) between the picoeukaryotic alga *Nannochloropsis oculata* and vessel noise that both enhance settlement of the blue mussel.

Within that context, the aim of our study was to assess for the first time the interactive effect of microalgae diet and either impulsive (pile driving) or continuous (drilling) sounds at increasing levels on great scallop (*Pecten maximus*) larvae. We hypothesize that interacting effects between noise and diet could modulate the settlement dynamics (including metamorphosis). We used mortality, metamorphosis, and growth as



settlement success variable and related them to pediveligers lipid content and fatty acid profiles to detect potential energetic effects.

II. Methods

II.1. Larval rearing

Batches of pediveliger larvae were produced at the ‘Ecloserie du Tinduff’ (Plougastel-Daoulas, France) following a method inspired by Buestel et al., (1982), as detailed in the Material & methods part of the Chapter 1 (p74). Briefly, adults were collected by dredge in the Bay of Brest in either Moulin Blanc (48°23.050’N, 004°25.520’W; water depth 10-12 m) or Lanvéoc (48°18.145’N, 004°26.189’W; water depth 11-12 m) the 26th November and the 6th December 2018 and were reared in tanks filled with coarse sediment and 5- μ m filtered seawater during 3 months of gametogenesis. Spawning was induced by thermal shock from 14.5 to 19.5°C on 18 adults chosen for their gonad maturation state. Spawning adults were isolated in beaker and cross-fertilization was performed at a rate of 1 oocyte per 8-10 sperm cells to avoid self-fertilization (Beaumont and Budd, 1983) that reduces the larval viability (Gruffydd and Beaumont, 1972). The resulting eggs were incubated for 48h at 80 trochophore larvae.ml⁻¹ in 450 and 150 l cylindro-conical tanks. Seawater was 1 μ m filtered (salinity = 33 psu; temperature = 19.5°C), stirred by air-bubbling, treated with U.V. and with 9 ppm of erythromycin to prevent bacterial development. At 2 days post-fertilization (dpf), veliger larvae were sieved and put at 40 larvae.ml⁻¹ density in the tanks filled with 18°C seawater treated as previously described. Larvae were fed every day with either a DTC diet (*Diacronema lutheri*, *Tisochrysis lutea*, *Chaetoceros neogracilis*) (1:1:1 ratio) at 20 cells. μ l concentration from 2 to 8 dpf (day post-fecondation), then with a DTCS diet (DTC + *Skeletonema marinoi*) (DT $\frac{2}{3}$ CS $\frac{1}{3}$ ratio) at 45 cells. μ l concentration up to 23 dpf. Once a day, water was renewed and larvae were sieved on square mesh to eliminate dead and low-growth individuals until decreasing the density until 5 larvae.ml⁻¹ at 23 dpf.

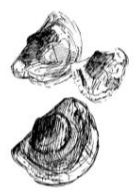
II.2. Sound emissions

To expose the larvae as close as possible to the sonorous field condition, we used the ‘Larvosonic’ system described in **Chapter 1**. Briefly, *Larvosonic* consists of a water bath with a main 800 l tank including 6 cylinders (= units of replication) that are half



filled with 5 l of culture solution (filtered seawater, larvae and diet), and 4 multiwell plates (6 x 15ml) filled with 10ml of culture solution. Sound is emitted upward from an underwater speaker Clark Synthesis AQ339 Diluvio™ (<https://clarksynthesis.com/aq339/>) placed in the center of the main tank. Sound reverberation is attenuated by Expanded Polystyrene diffusion panels (Vicoustic ©; <http://www.vicoustic.com>) fixed on the internal walls of the main tank. Sound nature and level can be adjusted via a Yamaha MTX3 digital matrix processor coupled to a Powersoft Otto 1204 DSP 8 channels amplifier (8 x 150 W), settings being made by MTX-MRX V4.0.0 Editor interface software. The pile driving sequence was based on a recording during the building phase of an offshore marine wind-farm in the North Sea (depth around 30 m, SOMME database). Each pile driving impulse lasts 200 ms with a repetition every 3s and the acoustic spectrum was characterized by a high level in the 40-800 Hz frequencies range. The drilling sequence was based on a field recording made in June 2018 at 200 m from the boat operating the geotechnical drilling (SOMME database). Drilling is a continuous sound and its spectrum is dominated by 100-10 000 Hz frequencies with more energy content in the 150 - 600 Hz and 4000 - 7000 Hz frequency ranges. Spectrums of the recorded sequences used for both sound are presented in **Chapter 1** (Figure 24; p79).

The experimental design is presented in Figure 30 : two batches of 4 ‘*Larvosonic*’ mesocosms were deployed in 2 independent rooms dedicated either to pile driving (P) or drilling (D) treatments. Food treatment consisted of 2 different mixtures of microalgae (3 replicates per diet and per *Larvosonic*): a classic DTCS diet supplemented with *Nannochloropsis oculata* (DTCS_N+) or not (DTCS_N-). In the first room, we generated three increasing levels of pile driving sound inside three distinct mesocosms during 4 days according to a 6:6 h on:off cycle. The tested SPL_{pp} correspond approximatively to what could be recorded at 78 000, 4 000 and 170 m from the pile driving source i.e. P1, P2, and P3 respectively. The transmission loss used to calculate the levels was $15\log_{10}(\text{distance})$, corresponding to *in situ* measured propagation loss (SOMME database). No sound was emitted in the fourth tank that constituted the control condition PC. Three sound levels were also used for the drilling sound treatment but distances from the emitting source, as assessed using SPL_{rms}, were estimated to be 21 500, 1 000 and <1 m respectively. The on:off cycle was fixed to a 19:5h and in a control condition DC, no sound was emitted. On:off cycles were chosen to match the foreseen *in situ* work



conditions (Ailes Marines, pers. com.). Sound levels were adjusted by recording 30s of sound emission at the center of each cylinder (10 cm above its bottom). They are detailed in **Chapter 1** (Table 3; p73) and expressed in SPL and SEL. The SPL_{rms} in controls varied between 96.3 ± 0.8 for PC and 100.3 ± 0.7 dB.re1 μ Pa for DC. Such levels were consistent with ambient sound levels recorded in temperate coastal environments of the western English Channel with contrasting wind conditions (Mathias et al., 2016). Acoustic recordings for calibration were made by using a RTSYS EA-SDA14 (<https://rtsys.eu/>) underwater acoustic recorder (sampling frequency of 78 kHz, 32-bit resolution) equipped with two HTI-96-min hydrophones with different sensitivities (-165 dB re 1V/ μ Pa and -210 dB re 1V/ μ Pa). Recorded files were manually cut using Audacity® (Version 2.4.2; Audacity Team 2018), then analyzed using a custom Matlab script (The MathWorks Inc.) and Sound Pressure Levels (SPL_{pp} for pile driving or SPL_{rms} for drilling) were also calculated using Matlab (but see **Chapter 1**).

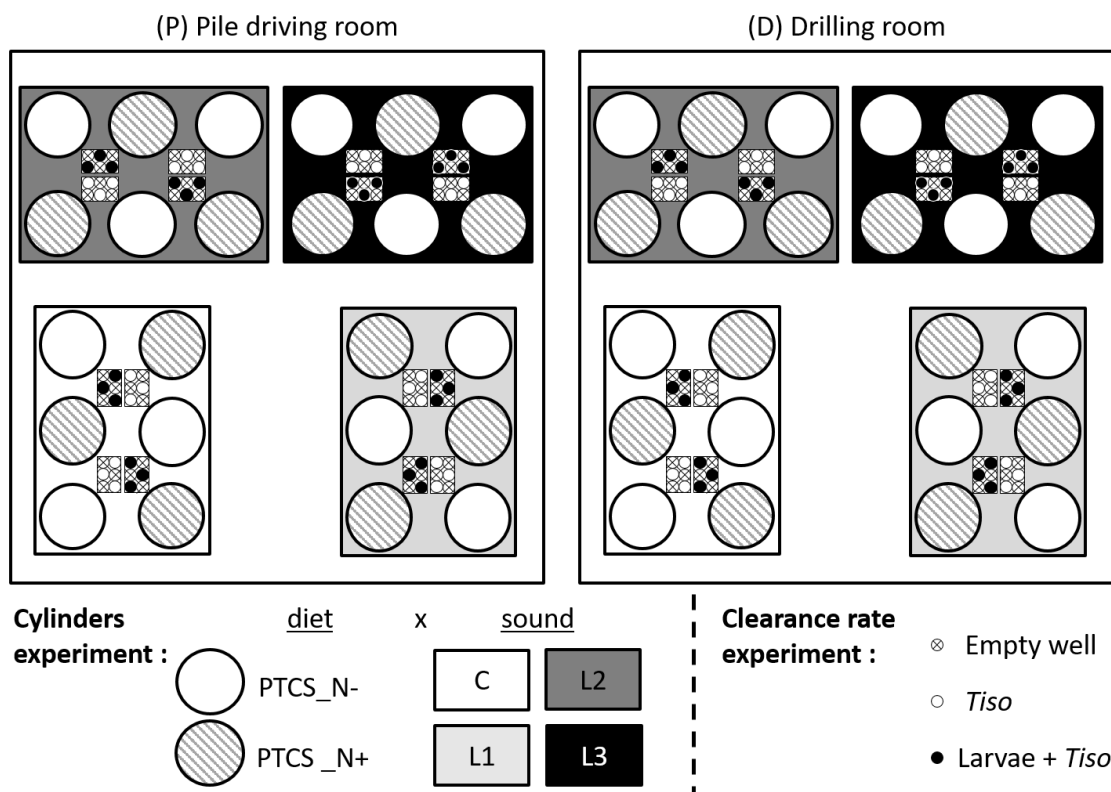


Figure 30: Schematic representation of the experimental protocol, showing eight ‘Larvosonic’ devices containing six replication units and four multiwell plates each. PTCS_N- and PTCS_N+ are the two diets we used, without and with *Nannochloropsis oculata*. L1, L2, L3 are the increasing sound levels emitted during the experiment and C is the control tank without any sound emitted. Wells contain either nothing, or water with *Tisochrysis lutea*, or *Tisochrysis lutea* and larvae.

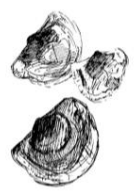


It is now admitted that invertebrates sense the particle motion component of the sound rather than acoustic pressure (Kaifu et al., 2008; Mooney et al., 2010; Popper and Hawkins, 2018). The relationship between particle motion and pressure is complex: usually particle motion cannot be evaluated from a single pressure measurement. As a result, to characterize particle motion propagation in tanks, direct measures are highly recommended (Jones et al., 2019), particularly in acoustic invertebrates' studies (Nedelec et al., 2016). However, making accurate measures of absolute particle motion level is still challenging, because calibrated off-the-shelf sensors are barely available (Nedelec et al., 2021). As a result, we prefer to resort to pressure only measurements. Those cannot be used to evaluate absolute particle motion impact threshold. However, pressure measurement can be used to evaluate relative impact: if source level increase (respectively decrease) by N dB, then both the pressure level and the particle motion level will also increase (respectively decrease) by N dB. This is a well known property of linear acoustics (which describes both pressure and particle motion fields), and it has been experimentally verified in the Larvasonic (see **Chapter 1**, p82 “III.1.3. Kinetic Energy (KE) versus Potential Energy”).

II.3. Growth, survival and metamorphosis success

Main tanks were filled with 18°C non-filtered seawater, cylinders were filled with 5 l of 1 µm filtered U.V. treated seawater and 9 ppm of erythromycin. Rooms were maintained with a heater at constant temperature (18°C ± 0,6°C) with a photoperiod of 12:12h. Pediveliger larvae were obtained at 23 dpf when 50% of the population reared in the cylindro-conical tanks reached the double ring stage, that is a proxy of larval competence (Robert et al., 1999). Batches of 20,000 larvae were then introduced in each cylinder/replicate and fed once a day with a concentration of 60 cells/µl (*Tisochrysis lutea* equivalent; Helm et al., 2004) of either DTCS_N+ or DTCS_N- diet in the larval culture (respectively 1:1:1:1:1 and 3:3:2:2 ratios). Concentrations were adjusted to maintain a similar algal biomass in each cylinder. Cylinders' experiments went on for 4 days from 21 to 25 March 2019 and treated seawater and food were renewed in the middle of exposure by sieving larvae on a 60 µm square mesh, preserving all cylinder population.

At the end of the 4 days experiments, each cylinder was gently rinsed over a 60 µm square mesh sieve to collect swimming larvae, then remaining crawling larvae were



detached from the walls and bottom of the cylinder by a gentle water jet and also sieved for collection. Larvae were rinsed to remove feces and sedimented microalgae, and concentrated in 500 ml beakers with filtered seawater. Three 4.13 ml aliquots were sampled in swimmers and crawlers replicates, after homogenization with a plunger to avoid any sampling bias (Helm and Bourne, 2006). Pediveliger larvae were preserved in 4% formaldehyde before counting and measuring their size. The remaining fractions were filtered on GF/F filters and stored at -80°C before lipids analysis.

The pediveliger larvae were counted using a microscope (Zeiss Axioscope A1, x40 magnification) equipped with a digital camera (Moticam 3.0 10+). Empty shells and larvae with disorganized tissue were considered as dead and counted to assess mortality rates. The mortality rate was estimated by the ratio between the number of dead individuals and the total number of individuals in each aliquot. We used the presence of demarcation formed by the boundary layer between the Prodissochonch II and the Dissochonch shells as a criterion of metamorphosis (Martel et al., 1995) to determine the number of settlers in each sample. Metamorphosis rate was calculated as the ratio between the number of larvae displaying a dissochonch shell and the total number of larvae in the sample. Recently metamorphosed bivalves post-larvae can disperse after settlement (Gunther, 1992) in response to environmental conditions, like trophic cues related to the phytoplanktonic composition (Forêt et al., 2018). We estimated the secondary migration by the number of larvae presenting a dissochonch shell in the swimming fraction and found less than 0.4% so we decided to neglect it. Shell length was measured in accordance with a maximum dorsoventral dimension from the umbo to the most distant part of the shell. Measurements were performed via the Motic Images plus 3.0 software, on 130 individuals before the experiment, 36 swimming and 36 settled individuals per cylinder at the end of the experiment. Daily growth rate was assessed by the difference between mean shell length before the experiment and individual shell length after the experiment, divided by 4, the day length of the experiment.

II.4. Clearance rates

In each main *Larvosonic* tank, 3 wells per plate were filled with 10 ml of similar treated water that cylinders and 50 pediveliger larvae were added into the wells of two of the plates, as the third plates was used to estimated microalgae sedimentation. Larvae in



the multiwell plates were fed with a concentration of 60 cells/ μl of *Tisochrysis lutea* and after 24 hours exposure, a lugol solution was added to 1% into each well to fix the microalgae. Each well was then filtered through a 40 μm filter to collect the larvae and stored in 5 ml Eppendorfs in a freezer (-20°C).

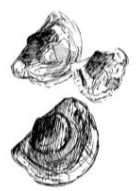
The concentration of microalgae in the well was estimated manually under microscope using a hemocytometer following the method described in Helm and Bourne (2006). The clearance rates (CR) in each well were calculated using a modified formula described by Comeau et al. (2008):

$$CR = ((\text{Ln}(C_{0i}) - \text{Ln}(C_{0f}) - (\text{Ln}(C_{1i}) - \text{Ln}(C_{1f}))) \cdot V \cdot T^{-1} \cdot N^{-1}$$

where C_i is the initial microalgae concentration and C_f as the final concentration of each well, C_0 means the well devoid of larvae whereas C_1 are the wells contained the larvae, V is the well volume (10 ml), T as the duration of the experiment (24h) and N as the number of larvae counted in each well.

II.5. Fatty acids analyses

Fatty acids extractions were performed following a modified method from (Bligh and Dyer, 1959) described in (Leroy et al., 2013), on either control or D3 and P3 sound. Briefly, pure borosilicate glass 47 mm Whatman GF/F filters (0.7 μm porosity) were combusted at 450°C for 4 h and pre-weighed. Then food diet, seawater with erythromycin and pediveliger larvae were filtered onto the resulting filters and stored at -80°C until their transfer to the lipid platform laboratory (Paris, BOREA Laboratory, MNHN). Filters were lyophilized, weighed and a defined amount (20 or 30 μg) of Tricosanoic acid (23:0) was added to every sample as an internal standard to calculate the absolute FA concentration. After extraction, fatty acids were concentrated in hexane before being injected in a gas chromatograph (GC, Varian CP-3800) equipped with a flame ionization detector, to be separated and quantified. FAMES peaks were identified by comparison of their retention time with those of analytical standards (Supelco™ 37, PUFA-1 Marine Source, and Bacterial Mix, Supelco Inc., USA). When additional identification of some FAMES peaks was necessary, samples were analyzed in a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (GCMS, Varian 450GC with Varian 220-MS) and computed mass



spectra were compared to the NIST[®] 2017 library. FAs are designated as X:Y ω Z, where X is the number of carbons, Y the number of double bonds, and Z the position of the ultimate double bond from the terminal methyl group. We report values as percentage of total FA (TFA) or absolute concentrations (mg.g⁻¹).

II.6. Statistical analyses

All others data analyses were performed on PRIMER7 software, using analyses of variance with 10 000 permutations (Legendre and Legendre, 2012) of residuals under a reduced model (PERMANOVA). Permutational method is a kind of randomization which allows us to get rid of the distributional assumptions as normality and can be applied to very small samples (Legendre and Legendre, 2012). Similarities matrices based on ratios were produced using the Euclidean distance.

A one-way Permanova tested the effect of crawlers and swimmers' separation (2 levels) on daily growth rate of all larvae. Following growth rate examination was then applied only on crawlers' fraction whereas mortality and metamorphosis analysis include both fractions together. For mortality, metamorphosis, and daily growth rates, the effects of pile driving (4 levels: PC, P1, P2, and P3) or drilling (4 levels: DC, D1, D2, and D3) in interaction with diet (2 levels: DTCS_N+ and DTCS_N-) were tested separately with two-way Permanova. For CR and larvae size in well plates, a univariate PERMANOVA was performed testing this impact of pile driving and drilling separately. When differences were significant (p-perm \leq 0.05), multiple comparison pairwise tests were used to determine which groups significantly differed. Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions (PERMDISP) were carried out to evaluate the homogeneity of ratios in each condition.

For FA datasets, only 2 levels of sound (control and L3) were compared. Euclidean coefficient is considered as inappropriate for analyzing abundance data because of it is affected by null values (Legendre and Legendre, 2012), so Bray-Curtis similarity index is usually used for abundances data (Barbier et al., 2017; Leroy et al., 2013). FA abundance, that includes null values that must not contribute much to the samples similarity, were used to produce triangular similarity matrices, based on Bray-Curtis similarity index. FA ratios were clustered into FA families: Σ branched, Σ SFA,



Σ MUFA, Σ PUFA, $\omega 3$, and $\omega 6$, respectively the sum of respectively branched, saturated, monounsaturated, polyunsaturated, $\omega 3$, and $\omega 6$ FA. Separately for FA abundance, each FA sums and TFA concentration (mg.g^{-1}), effect of pile driving (2 levels: PC, and P3) or drilling (2 levels: DC, and D3) in interaction with diet (2 levels: PTCS_N- and PTCS_N+) and fractions (2 levels: crawlers and swimmers) were tested with 3-crossed factors Permanova. Then effect of pile driving (2 levels: PC, and P3) or drilling (2 levels: DC, and D3) in interaction with diet (2 levels: PTCS_N- and PTCS_N+) on TFA concentration were tested by a 2-crossed factors Permanova for swimmers and crawlers fractions separately. When significant difference was detected among FA abundance, similarity percentage breakdown (SIMPER, Clarke, 1993) were computed to determine which FA were more responsible for the difference between groups and difference between factors was tested for each FA responsible for the dissimilarity with a PERMANOVA.

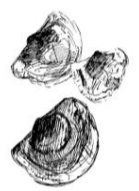
III. Results

III.1. Mortality rate

Mortality rates ($\text{MoR} \pm \text{standard error}$) of scallop pediveliger larvae in the pile driving experiment were always very low during the 4 experimental days (mean $\text{MoR} = 2.15 \pm 0.41 \%$) and no significant interaction ($p\text{-perm} = 0.2051$) nor difference were detected in the pile driving group between both sound ($p\text{-perm} = 0.5023$) nor diet ($p\text{-perm} = 0.2634$) treatments. In contrast, there were significant differences in the mortality rate between drilling sound treatments ($df = 3$, pseudo-F = 7.1495, $p\text{-perm} = 0.003$) without any diet effect ($p\text{-perm} = 0.9223$) nor interaction ($p\text{-perm} = 0.8927$). Multiple comparison tests showed that the mortality rate was lower in control (mean $\text{MoR}_{\text{DC}} = 1.4 \pm 0.35 \%$) than in the other sound treatments (mean $\text{MoR}_{\text{D1,D2,D3}} = 3.2 \pm 0.21\%$) with 2.3 times more dead larvae in sonorous conditions but always very low and below 4%.

III.2. Metamorphosis rate

Metamorphosis rate ($\text{MR} \pm \text{standard error}$) ranged either between 6.5 and 17.7% for the whole experimental population. Metamorphosis rate significantly varied among pile driving treatments ($df = 3$, pseudo-F = 3.5556, $p\text{-perm} = 0.0428$) (Figure 31), without any diet effect ($p\text{-perm} = 0.4166$) nor interaction ($p\text{-perm} = 0.0664$). MR were ~50%



highest in the P2 (mean $MR_{P2} = 17.7 \pm 2.3\%$) than in the other treatments (mean $MR_{PC, P1, P3} = 11.9 \pm 1.6\%$).

For the drilling exposure data, metamorphosis rate was not related to diet (p-perm = 0.6235), but significantly varied between sound treatments, (df = 3, pseudo-F = 7.9187, p-perm = 0.003) (Figure 31) without any interaction between factors (p-perm = 0.2286). The metamorphosis rates in D2 and D3 were significantly lower (mean $MR_{D2, D3} = 6.9 \pm 0.8\%$) than those of C and L1 (mean $MR_{DC, D1} = 12.1 \pm 1.4$) resulting in a mean relative decrease of 43%.

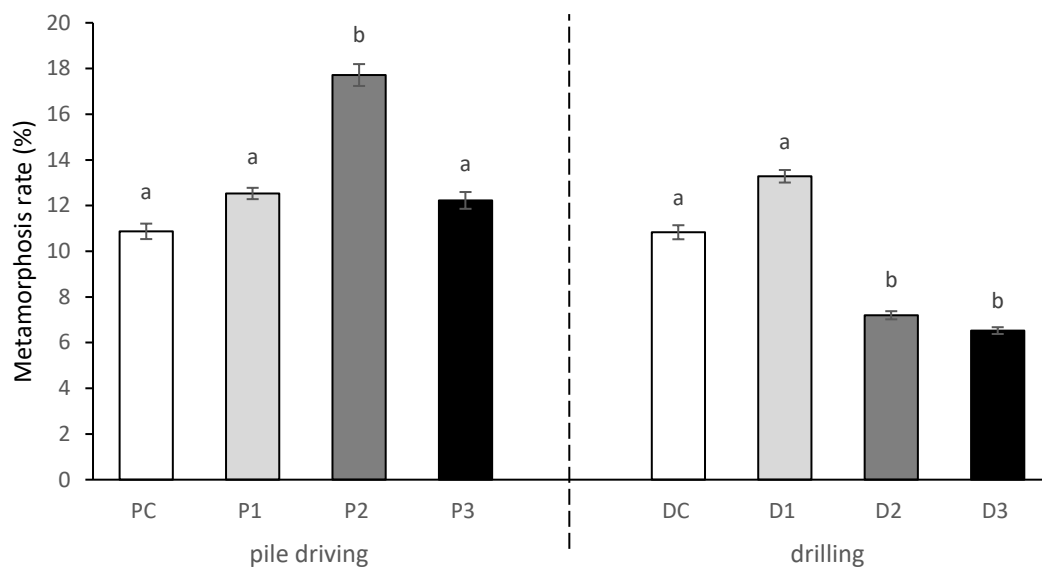


Figure 31: Mean metamorphosis rate \pm standard error (%) of larvae exposed to the different intensities of pile driving (PC, P1, P2 and P3) and drilling (DC, D1, D2 and D3) for total fraction (crawlers + swimmers). Only effect of sound intensities is presented, as no interaction (diet x sound) and diet effect were significant. Groups annotated with the same letter do not differ significantly at p-perm = 0.05.

III.3. Growth rate

Mean growth rate ($G \pm$ standard error) differed significantly (df = 1, pseudo-F = 513.54, p-perm = 0.0001) between settled larvae (mean $4.36 \pm 0.2 \mu\text{m/day}$) and larvae collected in the water column (no growth during 4 days). For crawler fractions of the pile driving experiment, larval growth significantly varied between sound (df = 3, pseudo-F = 11.379, p-perm = 0.0001) and diet treatments (df = 1, pseudo-F = 4.1402, p-perm = 0.0437) without any interaction (p-perm = 0.3398). The growth rate for larvae exposed to



P3 (mean $G_{P3} = 6.44 \pm 0.7 \mu\text{m/day}$) was 1.8-fold higher than for control and P2 (mean $G_{PC, P2} = 3.5 \pm 0.5 \mu\text{m/day}$), and 3-fold higher than P1 growth rate (mean $G_{P1} = 2.12 \pm 0.4 \mu\text{m/day}$) (Figure 32). Growth rate for pile driving experiment crawlers fed with PTCS_N+ was 32% higher (mean $G_{PN+} = 4.44 \pm 0.4 \mu\text{m/day}$) than for larvae fed with PTCS_N- (mean $G_{PN-} = 3.34 \pm 0.4 \mu\text{m/day}$).

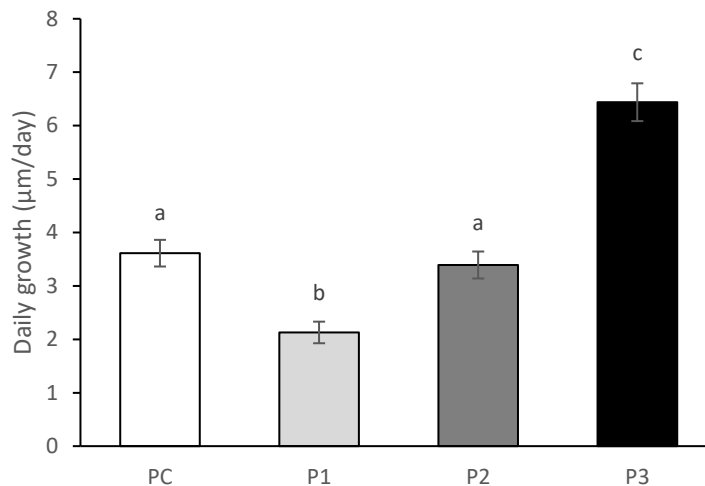


Figure 32: Mean daily growth \pm standard error ($\mu\text{m/day}$) of larvae exposed to increasing levels of pile driving sound (PC, P1, P2 and P3) among crawlers fraction. Only effect of sound intensities is presented, as no interaction (diet \times sound) and diet effect were significant in the pile driving group. Groups annotated with the same letter do not differ significantly at $p\text{-perm} = 0.05$.

For crawlers of the pile driving experiment, growth rate of crawlers fed with PTCS_N+ was 33% higher (mean $G_{PN+} = 4.41 \pm 0.4 \mu\text{m/day}$) than for larvae fed with PTCS_N- (mean $G_{PN-} = 3.31 \pm 0.4 \mu\text{m/day}$) (Figure 33).

For crawlers of the drilling experiment, larval growth significantly varied between diet treatment ($df = 1$, pseudo-F = 8.4493, $p\text{-perm} = 0.0028$) without any effect of the sound treatments ($p\text{-perm} = 0.7344$) nor interaction ($p\text{-perm} = 0.0701$). Growth rate of crawlers fed with PTCS_N+ was 34% lower (mean $G_{PN+} = 3.88 \pm 0.4 \mu\text{m/day}$) than for larvae fed with PTCS_N- (mean $G_{PN-} = 5.78 \pm 0.5 \mu\text{m/day}$) (Figure 33).

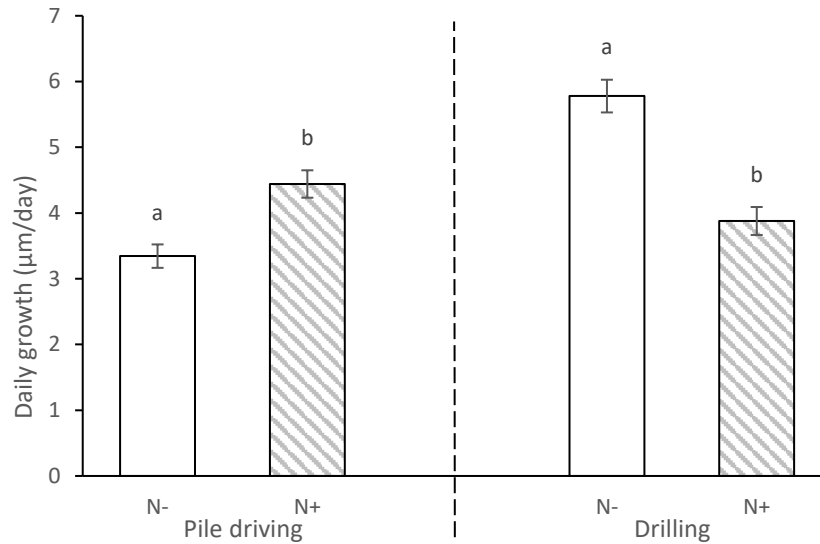
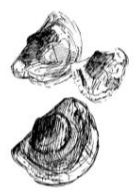


Figure 33: Mean daily growth \pm standard error ($\mu\text{m}/\text{day}$) of larvae exposed to two diets among crawlers fraction. Groups annotated with the same letter do not differ significantly at $p\text{-perm} = 0.05$.

III.4. Clearance rate

Mean pediveliger clearance rate (CR) varied from 0.177 to 0.411 $\text{ml}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{organism}^{-1}$ without any significant differences among pile driving treatments ($p = 0.3381$; Table 5) with a mean $\text{CR}_P = 0.311 \pm 0.04 \text{ ml}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{organism}^{-1}$. Drilling significantly reduced larval clearance rate ($df = 3$, pseudo- $F = 3.2959$, $p = 0.0483$; Table 5) by 28 or 30% between control (mean $\text{CR}_{DC} = 0.296 \pm 0.08 \text{ ml}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{organism}^{-1}$) and either D3 (mean $\text{CR}_{D3} = 0.213 \pm 0.03 \text{ ml}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{organism}^{-1}$) or D1 (mean $\text{CR}_{D1} = 0.177 \pm 0.03 \text{ ml}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{organism}^{-1}$). Mean CR_{D2} was not significantly different from CR_{DC} .

Table 5: Mean daily clearance rate (CR) \pm standard error ($\text{ml}\cdot\text{day}^{-1}\cdot\text{organism}^{-1}$) of *Pecten maximus* pediveliger larvae exposed to increasing levels of drilling (DC, D1, D2, D3) or pile driving (PC, P1, P2, P3) sounds. Groups annotated with the same letter do not differ significantly at $p\text{-perm} = 0.05$. Mean values of CR_P are included although no significant differences were observed at $p = 0.05$.

	Drilling	Pile driving
p-perm	0,0483	0,3381
DC / PC	0,296 \pm 0,08 a	0,411 \pm 0,08
D1 / P1	0,177 \pm 0,03 b	0,214 \pm 0,06
D2 / P2	0,195 \pm 0,07 ab	0,303 \pm 0,07
D3 / P3	0,213 \pm 0,03 b	0,383 \pm 0,08



III.5. Fatty acids

A total of 47 fatty acids were found in our samples, with 17 fatty acids in proportion >1% of TFA which collectively contribute to 92.6% of the TFA (Table 6). Dominant fatty acids were 16:0 ($15.09 \pm 0.22\%$), 16:1 ω 7 ($12.16 \pm 0.15\%$), 20:5 ω 3 ($11.6 \pm 0.29\%$) and 22:6 ω 3 ($8.24 \pm 0.35\%$). We also detected elevated proportions of 18:1 ω 9 ($6.46 \pm 0.07\%$), 18:4 ω 3 ($6.18 \pm 0.08\%$), 14:0 ($6.21 \pm 0.09\%$), 18:1 ω 7 ($6.03 \pm 0.07\%$), 18:0 ($5.32 \pm 0.33\%$) and few proportions of 20:4 ω 6 ($1.8 \pm 0.14\%$). The PERMANOVA analysis did not show any significant dissimilarities between fatty acid profiles of different conditions, sound (p-perm (D) = 0.1715, p-perm (P) = 0.6851), diet (p-perm (D) = 0.6518, p-perm (P) = 0.5516) or fraction (p-perm (D) = 0.2247, p-perm (P) = 0.2495), without any interaction. The percentage of \sum SFA (\pm standard deviation) content was lower in D3 drilling (mean \sum SFA_{D3} = 26.5 ± 1.4 %) compared to the control samples (mean \sum SFA_{DC} = 28 ± 1.8 %) (Table 6); df = 1, pseudo-F = 4.9557, p-perm = 0.0421), without any diet (p-perm = 0.6563), fraction (p-perm = 0.169) nor interaction effect. SIMPER analyses revealed that this difference was mainly due to the 18:0 pattern. There was a significant interaction (df = 1, pseudo-F = 11.096, p-perm = 0.0106) between sound and fraction factors for the TFA concentration in the pile driving group. The TFA (\pm standard deviation) concentration do not differ between treatments for crawlers, but was 13% higher for swimming larvae for the P3 (mean TFA_{P3} = 42.4 ± 8.2 mg.g⁻¹) than for the control treatment (mean TFA_{PC} = 37.6 ± 4.1 mg.g⁻¹) (df = 1, pseudo-F = 15.893, p-perm = 0.019).



Table 6: Fatty acid composition (mean % of the total identified FAs \pm standard deviation) of scallop pediveliger larvae control (C) and exposed to drilling sound (D3). Σ branched, Σ SFA, Σ MUFA and Σ PUFA are the sum of respectively branched, saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids. ω 3 and ω 6 are respectively the sum of ω 3 and ω 6 fatty acids. TFA is the total fatty acids concentration in mg.g⁻¹. Groups annotate with different letters differ significantly at p-perm = 0.05.

	C	D3
16.0	15.09 \pm 0.77	15.04 \pm 0.81
16.1 ω 7	12.16 \pm 0.51	12.29 \pm 0.54
20.5 ω 3	11.6 \pm 1.01	11.92 \pm 0.97
22.6 ω 3	8.24 \pm 1.22	8.70 \pm 1.08
18.1 ω 9	6.46 \pm 0.24	6.50 \pm 0.27
18.4 ω 3	6.21 \pm 0.3	6.33 \pm 0.33
14.0	6.18 \pm 0.28	6.27 \pm 0.25
18.1 ω 7	6.03 \pm 0.25	6.08 \pm 0.24
18.0	5.32 \pm 1.15 a	3.84 \pm 0.48 b
18.3 ω 3	3.66 \pm 0.12	3.73 \pm 0.05
18.2 ω 6	3.08 \pm 0.06	3.12 \pm 0.05
16.3 ω 4	1.83 \pm 0.1	1.86 \pm 0.09
20.4 ω 6	1.80 \pm 0.12	1.83 \pm 0.13
14.1 ω 5	1.56 \pm 0.07	1.57 \pm 0.07
16.2 ω 6	1.16 \pm 0.06	1.15 \pm 0.05
20.1 ω 9	1.13 \pm 0.04	1.14 \pm 0.03
22.5 ω 6	1.08 \pm 0.14	1.22 \pm 0.31
Σ branched	0.39 \pm 0.18	0.40 \pm 0.14
Σ SFA	28.05 \pm 1.77 a	26.53 \pm 1.39 b
Σ MUFA	28.98 \pm 1.11	29.20 \pm 1.13
Σ PUFA	42.58 \pm 2.73	43.88 \pm 2.56
PUFA/SFA	1.53 \pm 0.18	1.66 \pm 0.18
ω 3	30.86 \pm 2.42	31.86 \pm 2.32
ω 6	8.74 \pm 0.3	8.99 \pm 0.35
TFA (mg.g ⁻¹)	30.64 \pm 7.76	31.60 \pm 7.44

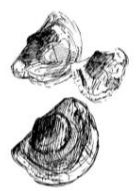


IV. Discussion

Our study, based on a set of experiments conducted on *Pecten maximus* pediveligers, reveals complex effects of noises that are related to the phase of installation of EMRs (pile driving and drilling operations) with a low influence of the trophic environment.

IV.1. TST influence on settlement and metamorphosis of *Pecten maximus*

In the last decades, evidence has been made that the trophic pelagic environment could trigger settlement (*Trophic Settlement Trigger*, TST; Androuin et al., 2022; Toupoint et al., 2012a). In Jolivet et al. (2016), the TST induced by the picoeukaryotic algae *Nannochloropsis oculata* acted in synergy with the vessel noise thus increasing the settlement rate of *Mytilus edulis* larvae by up to 70% in only 67h. Surprisingly, in the present work conducted on *P. maximus* larvae, we did not detect a clear trophic influence of *N. oculata* as expected. Dynamics of metamorphosis was not modified by the presence or absence of such microalgae, although a small interacting effect of diet with the type of sound was observed on larval growth. Lipid content and FA profiles were similar between larvae fed with diets enriched or not with *N. oculata*. Variation in 20:4 ω 6 proportion between each diet was very tiny (1.77 ± 0.11 % for DTCS_N- and 1.86 ± 0.13 % for DTCS_N+ larvae) whereas *N. oculata* is rich of this particular FA. Such result is confirmed in **Chapter 1** (p114) who did not detect differences in FA profiles linked to addition of *N. oculata* to the diet on post-larvae of the same species. Because diet factor does not change the larval FA content, we hypothesize that pediveligers and post-larvae of *P. maximus* do not assimilate *N. oculata*, and by cascade that this microalga cannot be considered as a TST cue for this species. Jolivet et al., (2016) validated that *N. oculata* enhance *Mytilus edulis* metamorphosis via assimilation and that non-ingested *Synechococcus* did not trigger settlement. Such contrasting responses between mussels and scallops confirm field observations made by Androuin et al. (2022) suggesting that larval sensitivity to TST should be species-specific.



IV.2. Direct impact of anthropogenic noise on larval mortality

Even for the most elevated level of anthropogenic noise tested, larval survival remained high (> 96.5%) after four days of exposure. We did not detect any significant effect of pile-driving noise on larval survival rates. Those results are in accordance with de Soto et al. (2013) who showed no mortality on *Pecten novaezelandiae* D-veliger larvae exposed to seismic pulses during 90h-short-term experiments but with significant increase in body abnormalities. For longer periods of exposure (12h per day during 5 days), Nedelec et al. (2014) show a 22% increase in mortality for sea hare larvae of *Stylocheilus striatus* exposed to seismic pulses. In the present study, drilling noise was the sole noise to induce a significant 2-fold overmortality from 1.38% to 3.23%, the overall mortality rates are so low that we have to conclude about a limited impact on scallop larvae mortality for such levels.

The addition of *Nannochloropsis oculata* in the diet stimulated the growth of competent larvae exposed to pile driving (from 2 to 6 $\mu\text{m}/\text{day}$ for control and exposed larvae respectively). Results of the **Chapter 1** (p84) showed a similar growth stimulation on post-larvae but surprisingly for the sole drilling sound (from 3 to 4 $\mu\text{m}/\text{day}$) showing that growth responses to anthropogenic noise could evolve along ontogeny. One also can note that growth values of both studies are in the range already reported by (Soudant et al., 1998) (2.4 to 6.5 $\mu\text{m}/\text{day}$) attesting of the good experimental conditions in the *Larvosonic* system.

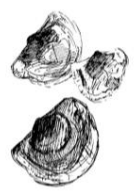
IV.3. Impact on settlement and metamorphosis

We show here that a pile driving sound of 167.1 dB re 1 μPa stimulated both metamorphosis (+49%) and growth (+2.5%) of *P. maximus* larvae while drilling sound decreased metamorphosis (-43%) without any effect on growth, suggesting that anthropogenic sounds of different nature modulate scallop development in opposite ways. This is in accordance with the results of other previous studies demonstrating either positive or negative impact of sound on the settlement of marine invertebrate stages (Jolivet et al., 2016; Lillis et al., 2013; Wilkens et al., 2012). To explain such response variability, we first hypothesize that larvae could be sensitive to the temporal



characteristics of sounds, either impulsive (pile driving) or continuous (drilling). No study comparing the effects of continuous vs impulsive sound actually exist in the literature for bivalve larvae, but some are available on the adult stages of the blue mussel *Mytilus edulis*. When exposed to pile driving impulsive sound, Spiga et al. (2016) observed higher clearance rates in *M. edulis* adults, whereas Wale et al. (2019) showed the opposite trend when blue mussels were submitted to a continuous ship noise. Both sounds differed also in levels and on:off rhythm of emission (6:6h for pile driving and 19:5h for drilling). The Sound Exposure Level (SEL) allows comparission of thoses two different emissions and reveals that for the third level only (D3 vs P3), cumulated sound pressure received by the larvae along a day or along the entire experiment was higher in the drilling tanks than in the pile driving.

Second, larval responses could differ according to the frequency composition of sound. Whereas both sounds display a maximum intensity in the low-frequency range, the spectrums differ in the 1000 – 10,000 Hz frequency band with a higher energy content for the drilling than for the pile driving sound. High selectivity in the response to sound spectrum was already demonstrated by Lillis et al. (2013) who showed that oyster larvae settle more rapidly when exposed to a reef than to an offshore sound, dominated either by high or low frequencies, respectively. However, response to sound appear to be species-specific as larval settlement of both mussel species *M. edulis* and *Perna canaliculus* is enhanced by low-frequency dominated vessel noise (Jolivet et al., 2016; Wilkens et al., 2012). The hypothesis advanced by Lillis et al. (2013) is that the settlement response to sound could be calibrated to the preferred habitat. More generally, the soundscape may provide a potential cue of suitable benthic habitats, that has to be selected by competent planktonic larvae (Eggleston et al., 2016; Lillis et al., 2014b) to favor post-settlement survival in both hard (Hunt and Scheibling, 1997) or soft-bottom substrata (Olafsson et al., 1994). As an example, decapod larvae reduce their *Time To Metamorphosis (TTM)* when exposed to natural estuarine sound (Pine et al., 2012). By contrast, anthropogenic noise may stimulate the planktonic life as shown for larvae of the gastropod *Bembicium nanum* that increase their swimming activity and extend their time to settle in response to outboard motor sound (Stocks, 2012). Metamorphosis delays have also been observed on larvae of *Pecten novaezelandiae* exposed to seismic pulse sounds (Aguilar de Soto et al., 2013).



In mollusks, larvae can extend the duration of their pelagic phase in absence of positive settlement cue (Bayne, 1965; Pechenik, 1990; Culliney, 1974) as for the blue mussel *M. edulis* (Martel et al., 2014). In the field, extending the pelagic phase is a risky bet as it increases the intensity of predation (Andre et al., 1993). Moreover, if a suitable substratum is not encountered and metamorphosis is postponed, then the larval energetic reserves may run out until death before or during metamorphosis process (Gebauer et al., 2003; Pechenik, 1990). We show that drilling decreased slightly the SFAs percentage of *P. maximus* larvae in parallel to a settlement inhibition. While it represents only a 5% decrease in 4 days, the effect of a longer exposure could be higher. Because the β -oxidation of SFAs produces more efficiently ATP than of PUFAs at equal chain length (Langdon and Waldock, 1981), high accumulation of SFA should be favored when energy needs are high (Cabrol et al., 2015). By contrast, lower SFAs content could result from a higher energy demand, like extending the pelagic phase, prospecting for a settlement site and limiting feeding on pelagic food.

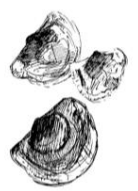
Data on clearance rates confirm this hypothesis, as drilling inhibits larval feeding. Difference in SFAs content was significant but low. Impact could be more important for long term exposure (> 4 days) as metamorphosis could be delayed for a longer period with negative effect on recruitment success (Martel et al., 2014). On the contrary, we observe that pile driving exposure led to an increase of the total fatty acid content of swimming larvae that does not traduce higher algal feeding as there was not significant difference in clearance rate. Also PUFA content, which is related to algal assimilation, was not modified by pile driving. We thus hypothesize that pile driving, by reducing the time to metamorphosis, could favor competent larvae to settle more rapidly with higher lipid reserves (Stanley et al., 2009).

In the present work, because *Pecten maximus* larvae are vulnerable to bacterial pathogens, especially when infected by *Vibrio* spp. (Nicolas et al., 1996), antibiotics were used to prevent diseases. However, antibiotics also block the development of bacterial benthic biofilms that have been proved to be significant cues to trigger metamorphosis (Hadfield, 2011; Hudon and Bourget, 1981; Toupoint et al., 2012) thus excluding a major settlement signal in the experiments (Pernet et al., 2005). Similarly, experiments were conducted without any turbulence whereas it controls the exploration behavior of bivalve larvae (Dobretsov and Wahl, 2008; Kobak, 2005), the response to water motion being



calibrated to the preferential environment of each species (Fuchs and Reidenbach, 2013). Flow rate during *P. maximus* rearing enhances the accumulation of fatty acid and improves the settlement success (Tremblay et al., 2020). Those non-optimal conditions can explain the low metamorphosis rate in our control tanks (around 10.8% in 4 days). Despite the lack of both biofilm and turbulence cues, our experimental study shows a positive effect of pile driving on the metamorphosis dynamics suggesting that sound could constitute crucial cues for settling larvae. Under pile driving sound exposure, settlers could decrease their selectivity for a suitable habitat, so that metamorphosis could occur in an unsuitable environment. By contrast, drilling sound exposure induce delays of metamorphosis and may thus increase larvae selectivity in non-optimal conditions (no biofilm nor turbulence).

Lagarde et al. (2018) have demonstrated that delays of metamorphosis of oysters *M. gigas* induced higher post-settlement mortality of juveniles, while early metamorphosis increased both survival (Martel et al., 2014) and larval growth (Delaunay et al., 1993) of *Mytilus edulis* and *Pecten maximus*. Metamorphosis is a high energy expenditure process (Holland and Spencer, 1973) so that higher lipids content during the pelagic phase is related to a better metamorphosis success as shown in Pectinids (Gagné et al., 2010; Pernet et al., 2006; Pernet and Tremblay, 2004). When a larva delays its metamorphosis, energetic reserves will decrease to a critical threshold that allows successful metamorphosis. At this stage, larva can metamorphose spontaneously without any positive settlement cue, also known as the “desperate larvae hypothesis” (Knight-Jones, 1951; Lagarde et al., 2018; Pechenik, 1990; Toonen and Pawlik, 1994). Advanced larvae decrease their habitat selectivity (Bayne, 1965; Gibson, 1995) and could even settle on an unfavorable substratum (Gribben et al., 2006; Olivier et al., 2000; Tremblay et al., 2007). Within that context, drilling noise potentially increases habitat selectivity and so delays of metamorphosis, which could lead larvae to a desperate behavior with heavy consequences on post-settlement survival. Inversely, acceleration of the metamorphosis process by pile driving reduces habitat selectivity and could lead to environment mis-choice with negative impact on fitness.



V. Conclusion

The present study gives evidence offshore installations, via the noise they introduce in the marine environment, impact bivalve recruitment through the metamorphosis dynamics and could by cascade influence post-larval survival and population renewal. We show here that noise impact is level dependent but also non-linear with the level. We observed a significant effect of both sounds from the second sound level used. In the field, such level correspond to a 330m or 170m distance from the source of pile driving or drilling operations, this could allow determining impact areas. Dose dependency information is crucial for stakeholders to manage such EMRs operations and protect marine biota. Sound levels and distances calculation were based on acoustic pressure measurements to be comparable with existing literature and available recording data. There is an urgent need for particle motion measurement of anthropogenic noise sources in the field. Whereas human activities in the marine environment are growing rapidly, the knowledge relative to the impacts of sound, and particularly drilling, on the different stages of marine organisms (embryos, larvae, juveniles and adults) is critically lacking and there is thus a crucial need to develop dedicated research on invertebrate species (Hawkins and Popper, 2017).



Acknowledgements

We deeply thank all the Tinduff hatchery team for their technical support, their useful advices and their remarkable skill in larval production. This study is a contribution to the BeBEST2 International Research Project (CNRS INEE/LEMAR and UQAR/ISMER).

Funding

The work reported in this paper was a part of the PhD of Mathilde Gigot, funded by the CNRS. Additional financial support was provided by the IMPAIC project (*'IMPacts Acoustiques sur les Invertébrés de la baie de Saint-Brieuc'*), supported by Ailes Marines.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no financial interests or personal relationship that could have influence this work.

Data statement

Original data are available on demand to the corresponding author.



© Liz Hascoët / Fovearts

Chapitre 3:

Maternal effects of pile driving sound
on *Pecten maximus* (L., 1758)
first stages development



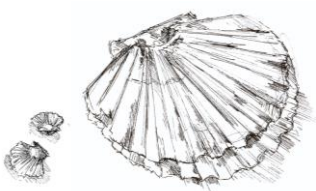
Synthèse

Après avoir mis en évidence les effets de l'exposition directe de larves aux bruits anthropiques, nous nous sommes intéressés aux effets transgénérationnels du son. L'exposition d'un adulte à un stress peut influencer le phénotype de sa descendance : c'est ce qu'on appelle un effet maternel.

Nous avons donc exposé des coquilles Saint-Jacques adultes à des niveaux croissants de battage de pieu pendant les dix dernières semaines de leur gamétogénèse avant de provoquer leur ponte. Puis nous avons soumis leur descendance à ces mêmes bruits dans notre *Larvosonic*. Nous avons exposé les larves à quatre stades distincts de leur développement afin de mettre en évidence de potentiels effets ontogéniques.

Nous avons remarqué une réduction de la taille des gonades des adultes. Cette diminution de l'investissement maternel dans la reproduction n'a pas pour cause une réduction de l'alimentation comme le montre l'absence de différence entre les contenus lipidiques de nos adultes. L'augmentation du métabolisme causée par le stress acoustique pourrait être à l'origine de cette réduction de la maturation. Les adultes exposés à un faible niveau de son produisent moins d'œufs atrophiés, et leurs œufs montrent un plus haut taux d'éclosion. La stratégie maternelle mise en évidence par ces résultats pourrait être de produire moins de descendants mais de qualité supérieure. En effet, les larves résultantes possèdent de meilleures performances avant la métamorphose et grandissent et se métamorphosent plus rapidement. Ceci suggère une stratégie maternelle tournée vers la réduction de la phase pélagique. Les effets sont moins significatifs au stade de post-larve, ce qui laisse à penser que l'exposition maternelle agit surtout aux stades pré-métamorphiques et que la métamorphose remet à égalité les performances des différents lots de larves. Ces modulations de performances ne sont pas reliées à des variations du contenu lipidique et le mécanisme de transmission maternelle reste donc inconnu.

L'effet maternel ne confère pas une adaptation stricte au son. Avant la métamorphose, l'exposition des parents à un faible niveau réduit la résistance des larves au son. L'exposition forte des parents permet d'augmenter les performances uniquement des larves exposées. La résistance au son conférée par l'effet maternel n'est alors



avantageuse que dans un environnement sonore et pourrait représenter un coût évolutif dans une situation non stressante.

De fortes et complexes interactions agissent entre l'exposition des adultes et celle des larves, et varient selon le stade et le niveau sonore. Compte tenu de l'importance des stades larvaires dans le renouvellement d'une population, nos résultats prouvent que l'impact du son peut se propager sur plusieurs générations. A travers la modulation de la taille et de la métamorphose, les effets maternels pourraient changer la sélectivité et les profils de dispersion larvaire. Notre étude est la première à mesurer les effets maternels du son sur des invertébrés et souligne l'importance de mener plus de recherches en ce sens.



Maternal effects of pile driving sound on *Pecten maximus* (L., 1758) larvae first stage development

Mathilde Gigot ^{1*}, Réjean Tremblay ², Julien Bonnel ³, Delphine Mathias ⁴, Tarik Meziane ⁵, Laurent Chauvaud ¹, Frédéric Olivier ⁵

In revision in *Ecologia*

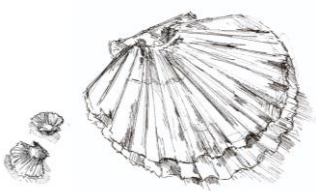
¹ Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR) UMR 6539 UBO/CNRS/IRD/Ifremer, rue Dumont D'Urville, 29280 Plouzané, France

² Institut des Sciences de la Mer, Université du Québec à Rimouski, 310 Allée des Ursulines, Rimouski, Québec G5L 2Z9 Canada

³ Woods Hole Oceanographic Institution, Applied Ocean Physics and Engineering Department, Woods Hole, MA 02543, USA

⁴ Société d'Observation Multi-Modale de l'Environnement, 115 Rue Claude Chappe, 29280 Plouzané, France

⁵ Biologie des Organismes et Écosystèmes Aquatiques (BOREA) UMR 8067 MNHN, CNRS SU, IRD 207, UCN, UA, 61 Rue Buffon CP 53, 75005 Paris, France



Abstract

Maternal effects influence the offspring phenotype in response to stress experienced by the adults. In marine invertebrates having weak capacity to regulate their physiology in coastal environments, abiotic factors act directly on maternal capacity to transfer energy to eggs. Successful development of first stages larvae to juveniles is related to maternal transfer. Human activities generate very powerful low-frequency sounds in the marine environment, and especially pile driving associated with the building phase of offshore wind farms. Number and size of wind farms grow without knowledge on the impact of soundscape modification on marine fauna. Particularly, sensitivity of invertebrates to sound is poorly considered, despite their ecosystem goods and services in coastal environments. Few studies on invertebrates considered the impacts on adult or larval stages separately, but never investigated the cross-generation effect of anthropogenic sound. This article explores the potential maternal effects of pile driving on first stage development of *Pecten maximus*, a coastal invertebrate specie that overlap with wind farm construction areas. Adults were exposed to increasing pile driving sound during gametogenesis, their offspring were exposed to the same sound conditions. The results highlighted that pile driving reduce reproductive investment of the exposed adults. Scallops exposed to sound produce larvae that grow and metamorphose faster, which could be a potential amplified adaptive strategy to reduce pelagic phase in a stressful environment. Finally, anthropogenic sound levels experienced by the parents modify larvae response in these similar conditions. The results demonstrated that sound, like others pollutants, impacts the marine ecosystem over generations.

Keywords

Anthropophony, reproduction, larvae recruitment, fatty acids.



I. Introduction

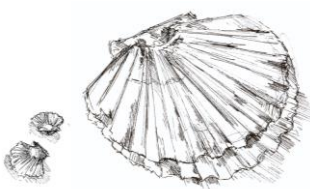
In both terrestrial and marine environments, parents can adjust their offspring phenotype in a changing environment, a phenomenon called ‘maternal effect’ (Bernardo, 1996). Several types of maternal effects are observed based on mother and offspring relative fitness (Marshall and Uller (2007)).

For *Anticipatory Maternal Effects*, mothers adjust the offspring phenotype in prediction of particular local conditions so that offspring fitness should increase. As an example, in the colonial bryozoan *Bugula neritina*, offspring (non-feeding larval stages) of mothers previously exposed to a copper toxicant stress become more resistant to this pollutant (Marshall, 2008).

By contrast, for *Selfish Maternal Effect*, mothers decrease their offspring fitness (performance and/or quality) when facing challenging conditions to ensure their own survival. In that case, *B. neritina* colonies that were reduced in size by manipulation (simulating predation) produced offspring with reduced size to redirect energetic resources to the colony growth. Thus, in relation to stress or intensity, a species can express both strategies, as also observed in *Chthamalus bisinuatus* barnacle (Freuchet et al., 2015). This species exposed to moderate thermal short-term stress events showed anticipatory fitness effects by increasing quantity and quality of larvae. However, after severe stress, parents decreased larval release of lower quality, compatible with a selfish strategy.

At last, in a changing and unpredictable environment, producing a large range of phenotypes in order to better adapt to every environmental changes (*Bet-hedging maternal effects*) could be another strategy. However, favoring resistance to a chemical stress (Levinton et al., 2003; Schmutz et al., 2021) involves a cost that could decrease offspring fitness. This response is not universal, as Marshall D. J. Marshall (2008) showed in the bryozoan *Bugula neritina*, that mothers exposed to copper produced larger offspring more resistant to this pollutant and with higher dispersal capability, despite lower survival potential for intraspecific competition. Maternal effects are often considered as adaptive (Mousseau, 1998) as they give advantage for either offspring and/or parents. However, the adaptive significance of maternal effect is still an ongoing debate (Cox and Ward, 2002).

When some maternal effects neither benefit to offspring nor parents, without thus any adaptive potential, Marshall and Uller (2007) consider them as just a side effect or a



physiological inevitability of a induced stress (*Transmissive Maternal Effects*). As a whole, maternal effects may have long-term consequences on species recruitment and by cascade on population renewal. When an organism is exposed to a new stress that has not been experienced over evolutionary time, no adaptive response has been selected yet. New stress linked to anthropogenic pollution are likely to elicit such maternal response (Marshall and Uller, 2007). According to World Health Organization, sound now constitutes one of the most pervasive pollution in terrestrial and aquatic environments (*Burden of Disease from Environmental Noise*, 2011).

Since the last decades, human marine activities, that largely proliferate in the coastal marine areas, have significantly modified the natural marine soundscape (McKenna et al., 2012). They introduce low frequencies (below 1kHz) and increase the global underwater sound level, thereby deeply altering the natural sound signatures in the oceans (Chapman and Price, 2011). There is a great concern on the potential impacts of noise pollution on marine life and an emerging area of research in marine ecology (National Research Council, 2003; Weilgart, 2007; Popper and Hawkins, 2019; Samson et al., 2016). Despite of their pivotal role in most in marine food webs and the essential services for ecosystems they provide (Smaal et al., 2019), marine invertebrates and especially mollusks have been rarely addressed in the underwater sound-effects studies and excluded from efficient regulation of noise pollution by stakeholders (de Soto, 2016). Some studies proves that sound induce behavioral responses in invertebrates (Charifi et al., 2017; Fewtrell and McCauley, 2012), modifies genetic expression (Peng et al., 2016), DNA integrity (Wale et al., 2019), and alter larval development (de Soto et al., 2013) and behavior (Eggleston et al., 2016; Jolivet et al., 2016; Lillis et al., 2015; Wilkens et al., 2012).

Among the loudest underwater source of anthropogenic noise, pile driving operations are commonly used for offshore structure installation including wind farms, bridge support, or oil and gas platforms (Robinson et al., 2013). Pile driving sound is characterized by short impulses with high peak pressure and broadband spectrum with most energy below 1 kHz (Leunissen and Dawson, 2018). Associated peak-to-peak sound pressure level can raised 205 dB re 1 μ Pa, 100 m away from the pile (Robinson et al., 2013). During wind farm offshore installation, because pile driving operations can last for months, the associated noise pollution can interfere with both benthic adult gametogenesis during spring and with larval stages during the summer.



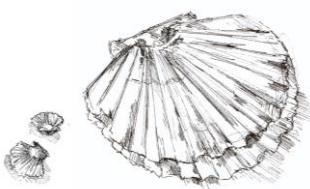
To our knowledge no study has ever investigate the consequences of anthropogenic underwater sound exposure of adult stages of marine invertebrates on the subsequent offspring. We propose here to assess through laboratory experiments the potential maternal effect of anthropophony on one marine bivalve, the great scallop *Pecten maximus*. Distributed on the Atlantic European coasts, *P. maximus* has a high commercial value and its populations are particularly abundant where wind turbines are planned to be installed, like the bay of St-Brieuc (English Channel, Brittany). We hypothesize that scallop adult exposure during maturation to increasing levels (low, intermediate or high) of pile driving sound could modulate adult reproductive success (maturation, lipid contents...) and offspring (early D-veliger, eyed veliger, pediveliger and juvenile) performances (mortality, growth, metamorphosis rate and lipid contents). Then by testing the sensitivity of offspring to pile-driving sound, we provide here new evidence on the most probable type of maternal effects operating in the *Pecten maximus* / acoustic stress relationship.

II. Material and methods

Both experiments on larval and adults were conducted at the ‘Ecloserie du Tinduff’ (Plougastel-Daoulas, France).

II.1. Parental sound exposure during gonad maturation

Adults were collected by dredging the 26th November and the 6th December 2018, when gonad maturation start to re-grow weakly (Paulet et al., 1995), on the two following sampling sites of the Bay of Brest (Brittany, France): Moulin Blanc (48°23.050’N, 004°25.520’W; water depth 10-12 m) and Lanvéoc (48°18.145’N, 004°26.189’W; water depth 11-12 m). Once in the laboratory, scallops were brushed to remove epifauna then distributed (batches of 35 adults) in twelve open flow circulating tanks (90x150x47 cm; 2400 l). Tanks were previously filled with a 8cm-layer of cleaned and autoclaved coarse sand (mix of 2/3 of 0.6-1.6 mm and 1/3 of 0.4-0.8 mm sediment) and supplied with 5-µm filtered seawater. To stimulate gametogenesis, adults were fed continuously with a DTCS mixture of 4 microalgae, *Diacronema lutheri* RCC1537 (D), *Tisochrysis luthea* RCC1349 (T), *Chaetoceros neogracilis* 1010.40 (C) and *Skeletonema marinoi* RC1716 (S) (2:2:1:1



cells ratio) to reach 5 to 10 billion cells per animal per day and temperature slowly increased from 10.9 ± 0.06 to 14.5 ± 0.03 °C.

From beginning February and during 10 weeks, we exposed scallops during gametogenesis to increasing level of pile driving sound and a quiet control condition in triplicated tanks (Figure 34). Weak, intermediary and intense levels correspond to levels recorded in the field at 78 000, 4000 and 170m (Transmission loss = $15\log(\text{distance})$) from the pile-driving system (i.e. peak to peak Sound Pressure Level (SPLpp) = 147.6 ± 2.5 ; 167.1 ± 2.4 ; 187.6 ± 2.4 dB re 1 μPa @ 1m \pm Standard Error SE). One DNH Aqua-30™ underwater speaker (<https://www.dnh.no/speakers/aqua-30-365.aspx>) was suspended at the sub-surface in the center of the tank and directed downward. The use of a Yamaha MTX3 digital matrix processor coupled to a Powersoft Otto 1204 DSP 8 channels amplifier (8 x 150 W) allowed simultaneous sound emissions of different levels in the tanks. Output amplifier levels were set using a MTX-MRX Editor software V4.0.0 and speaker levels were adjusted by recording 30s of sound emission in each tank using a RTSYS EA-SDA14 (<https://rtsys.eu/>) underwater acoustic recorder equipped with two HTI-96-min hydrophones with different sensitivities (-165 dB re 1V. μPa^{-1} and -210 dB re 1V. μPa^{-1}).

Details about emission, recording and sound level calculation can be found in the Material & methods part of **Chapter 1**. Sound treatment also includes triplicated control conditions corresponding to ambient sound without any sound emission (i.e. SPLpp = 100.3 ± 0.7 dB re 1 μPa @ 1m \pm SE). The emitted pile driving sequence was based on a recording during the building phase of an offshore marine wind-farm in the North Sea (depth around 30 m, SOMME database). Spectrum of the record used is presented in **Chapter 1** (Figure 24). Each impulse lasts 200 ms with a repetition every 3s and the acoustic spectrum was characterized by a high level in the 40-800 Hz frequencies range. The on:off cycle was fixed to 6:6:h to match the foreseen *in situ* work conditions (Ailes Marine, pers. com.). During the 10 weeks exposure, few individuals died (0 to 3 per tank) and were directly removed from tanks.

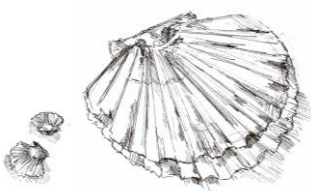
II.2. Reproduction success and spawning induction

When spontaneous spawning events were observed in conditioning tanks, we renewed totally the related tank with new seawater, to avoid stimulation of spawning of



other adults (Loosanoff and Davis, 1963). With the presence of spontaneous spawning in some tanks and several oocyte stages in the gonad during gametogenesis (Devauchelle and Mingant, 1991), we used condition indices to estimate reproductive success. To estimate potential effect of treatment on feeding and energetic reserve accumulation, digestive gland index (Lemaire et al., 2006) and muscle index (Narvarte, 2003) were also estimated at the end of sound exposure. When final stage maturation was observed in a tank, following criteria described by Devauchelle and Mingant (1991), five scallops were collected for weight measurements (condition and digestive gland index) and further fatty acid analysis. They were dissected and related gonad, muscle and digestive gland were removed and weighted (wet and dry after 24h lyophilisation) as well as remaining tissues and shells. Condition indices were calculated for each organ as follow: $\text{index} = \text{dry weight of an organ} / \text{total body dry weight} \times 100$ (Giese, 1959; Lavaud et al., 2014; Sastry and Blake, 1971).

When they attain maturation monitored visually, 27 adults per treatment were selected in tanks where weak partial spawning occurred, excluding the intermediary treatment for the maternal effect study. Spawning was induced separately by thermal shock from 14.5 to 19.5°C (Buestel et al., 1982). Spawning individuals were isolated in two beakers during sperm and oocytes emission to avoid self-fertilization reducing larval viability (Beaumont and Budd, 1983). For each spawning female, an aliquot of the oocytes solution was sampled, and oocytes were counted and observed to determine the ratio of atrophied oocytes per female used as quality indicator (Dorange and Penneç, 1989). Cross-fertilization was performed with the same spermatozoid/egg ratio (8/1) for each batch and resulting eggs were then sieved on a 70µm square mesh, counted, and incubated for 48h in cylinder-cone tanks at a 80 trochophore larvae.ml⁻¹ initial density. Hatch rate was the ratio between the number of fertilized eggs and the number of D-shaped larvae after 48h incubation. Eggs from all individuals of a same sound condition were pooled in a same tank to remove individual variability, but then there was no replicates allowing statistical analyse of the hatching rate. Larvae were reared in 1µm-filtered U.V. treated seawater (salinity = 33 psu; temperature = 19.5°C) with 9 ppm.l⁻¹ of erythromycin to prevent bacterial development (Nicolas et al., 1996), and stirred by air-bubbling. At 2 days of postfertilization (dpf), veliger larvae were transferred in two 450 l cylinder-cone tanks filled with 18°C seawater (40 larvae.ml⁻¹). These larval rearing tanks, were used to produce each larval stage tested in *Larvosonic* system. Each day, seawater



in tanks was renewed and larvae were passed on 80 μm square mesh sieves to estimate mortality rates and the number of larvae reaching the double ring stage, which is a proxy of larval competence (Robert et al., 1999). Including natural mortality and low growth individuals elimination by the sieving, the larval density decreased to 5 larvae. ml^{-1} at 23 dpf. Larvae were fed once a day with DTC (1:1:1) then DTCS (2:2:1:1) diets at concentration of 60 cells μl^{-1} (*Tisochrysis lutea* equivalent; (Helm and Bourne, 2006).

II.3. Larval sound exposure

Larvae were exposed to pile driving sound using the *Larvosonic* system (see **Chapter 1**). Briefly, it consists of a main 800 l tank in which six 5l-cylinders (independent replication units) are placed. Sound is emitted in this water bath by a Clark Synthesis AQ339 Diluvio™ (<https://clarksynthesis.com/aq339/>) underwater speaker placed on the bottom of a main tank and directed upward. The tank is equipped with expanded polystyrene panels, in order to reduce reverberation and resonance from reflective boundaries (Duncan et al., 2016; Gray et al., 2016), which allows a more realistic sound exposure. Because invertebrates possess statocysts and no gas-filled organs, they likely respond to particle motion rather than sound pressure (Mooney et al., 2012; Popper and Hawkins, 2018). In the *Larvosonic* both acoustic pressure and particle motion decrease by exactly the same level when sources level decreases by a certain amount of dB (see **Chapter 1**, p82 “III.1.3. Kinetic Energy (KE) versus Potential Energy”).

As during the adult exposure phase, sound files and level have been adjusted by recording 30s of sound emission in each tank using the same material as previously described. Batches of 40 000 veligers (young and old), 20 000 pediveligers or 10 000 post-larvae were successively introduced in each cylinder at respectively 4, 13, 29 and 40 dpf. We started the two veliger experiments at 4 dpf. Pediveliger larvae were considered to be competent when 50% of the population reached the double ring stage (Robert et al., 1999). *Larvosonic* cylinders were filled with 1- μm filtered 18°C, U.V. and erythromycin (9 ppm. l^{-1}) treated seawater. Temperature in the rooms remained stable at $\sim 18 \pm 0.06$ °C and photoperiod was set at 12:12h. Larvae were fed once a day, as already described. Exposure ran on 4 days and water was renewed after 2 days by sieving larvae on a 60 μm square mesh, thus keeping the dead larvae in the cylinders until the end of experiment to estimate the mortality during the experiment. The experimental design includes eight



'Larvosonic' systems divided in two rooms (Figure 34), each of which having 3 cylinders filled with larval batches from either control and intense (first room) or weak (second room) sound level exposed parents. In both rooms, the pile driving sound was emitted at the same 4 levels used during parental sound exposure (control, weak, intermediary and intense) as the on:off sound cycle fixed to 6:6h.

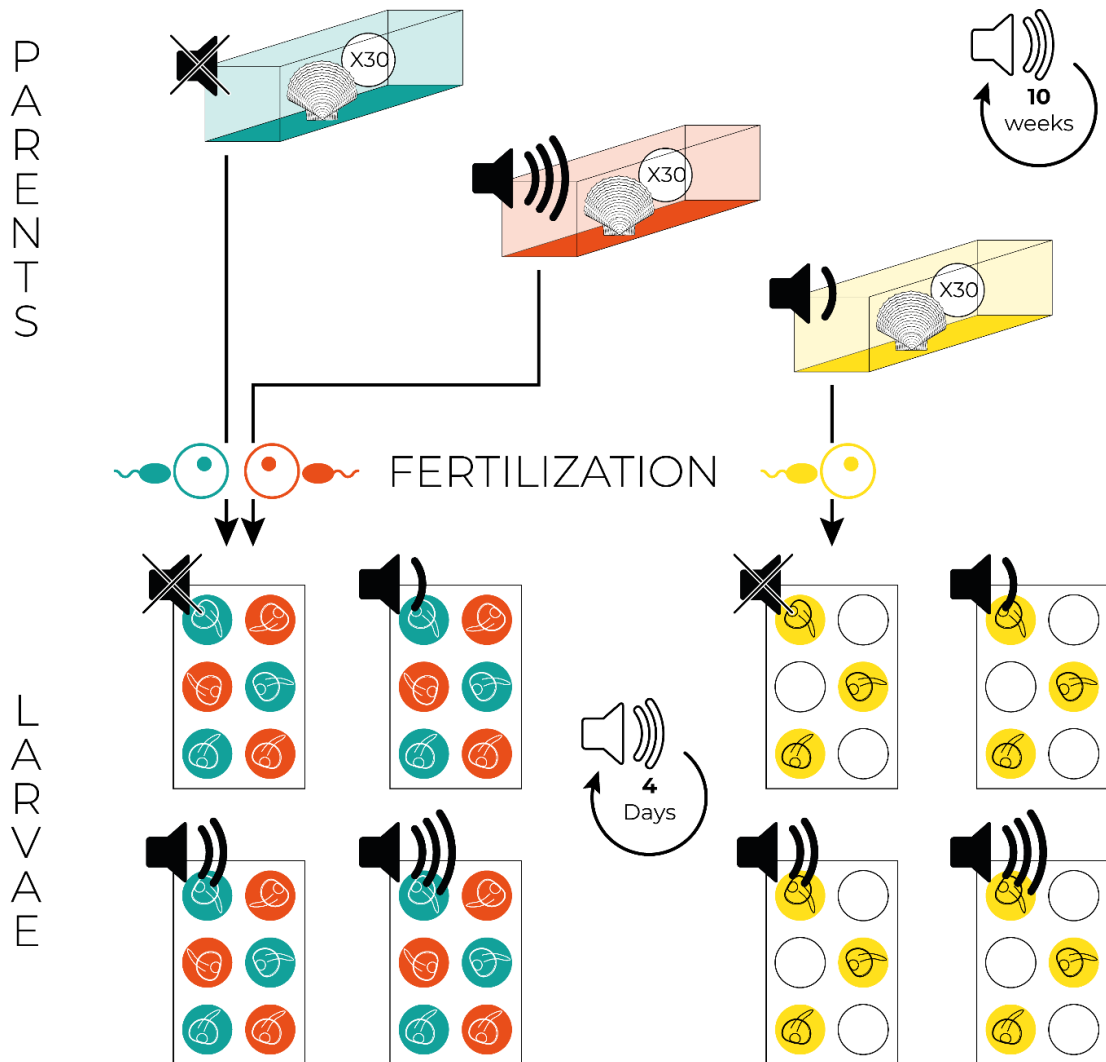
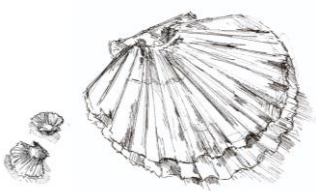


Figure 34: Graphical representation of the experimental design. Adults of *Pecten maximus* were conditioned during 2.5 months of gametogenesis in control condition or under 3 increasing levels of pile driving noise (weak, intermediate or intense level). After spawning was triggered, their offspring were divided in eight 'Larvosonic systems' distributed in two rooms in each of it the same pile driving sequence at 4 levels was emitted during 4 days. Intermediary exposed parents were not induced to spawn due to partial spawning during the maturation.



II.4. Larval mortality and growth

Before the start of each stage experiment, triplicate larval samples of each parental group were filtered on borosilicate glass filters (Whatman, grade GF/F, 47 mm, 0.7 μm porosity) and stored at -80°C until further fatty acids analyses. In *Larvosonic*, aliquots of each pelagic stages tested were taken directly in each cylinder at the end of sound exposure by sampling 4.13 ml after plunger homogenization to avoid sampling bias (Helm and Bourne, 2006) that were fixed with 4% formaldehyde. For settled stage, each cylinder was gently poured on a square mesh to collect swimming larvae, then crawling and settled larvae were detached from the walls by a pipette jet before sieving. Swimming and settled/crawling larvae fractions were then concentrated in two 500 ml seawater beakers and three 1 ml aliquots were sampled and fixed.

Collected larvae were observed under a microscope (Zeiss Axioscope A1, x20 or x40 magnification depending on the stage) equipped with a digital camera (Moticam 3.0 10+). Empty shells were considered as dead larvae and counted to assess mortality rate as the ratio between dead larvae and total larvae in each sample. Shell length was measured via the Motic Images plus 3.0 software, from the umbo to the most distant part of the shell, in accordance with a maximum dorsoventral dimension. Such variables were determined on 100 individuals of each treatment before sound exposure and on each cylinder tanks of *Larvosonic* after sound experimentation (n between 16 to 60 individuals). Daily growth rate was assessed by the difference between mean shell length before the exposure and individual shell length after the experiment divided by the experimentation duration (4d). To distinguish metamorphosed pediveligers (i.e. settlers) from the others, we used the demarcation between Prodissochonch II and Dissochonch shells as criterion (Martel et al., 1995). Metamorphosis rate was calculated as the ratio between the number of metamorphosed larvae and larval total abundance and size at metamorphosis as the distance from the umbo to the Prodissochonch II / Dissochonch demarcation. Finally, the difference between the total length and size at metamorphosis was calculated to assess post-metamorphic growth.

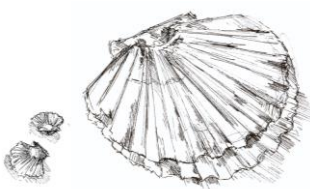


II.5. Fatty acid analyses

Food diet and larvae before and after sound exposure were filtered onto pre-combusted and pre-weighed GF/F filters and stored at -80°C . Muscle and gonad samples and filters were lyophilized, weighed and lipids were extracted at the lipid platform laboratory (Paris, BOREA, MNHN) following a modified method from (Bligh and Dyer, 1959) described in (Leroy et al., 2013). Before extraction, tricosanoic acid (23:0) was added to every sample as an internal standard to allow calculation of the absolute fatty acid concentration. Fatty acids were then identified and quantified by a gas chromatograph (GC, Varian CP-3800) equipped with a flame ionization detector. Fatty acid methyl ester peaks were identified by comparison of their retention time with those of analytical standards (Supelco™ 37, PUFA-1 Marine Source, and Bacterial Mix, Supelco Inc., USA). Additional compounds were identified using a gas chromatograph coupled to a mass spectrometer (GCMS, Varian 450GC with Varian 220-MS) and computed mass spectra were compared to the National Institute of Standards and Technology (2017) library. Fatty acids quantified by using the flame ionization detector and the internal standard (23:0), are designated as X:Y ω Z, where X is the number of carbons, Y the number of double bonds, and Z the position of the ultimate double bond from the terminal methyl group. We expressed each FA value as percentage of total fatty acids or absolute concentrations ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) in the dry tissue weight, compared with the internal standard. We also report the total fatty acid content (TFA) as a concentration ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$).

II.6. Datas analyses

Statistical analyses were performed on data associated with each stage separately: young veliger, old veliger, pediveliger, post larvae and adults. Most of the statistical analyses were multi analyses of variances with permutations, performed using the PERMANOVA + package on PRIMER 7 software. Permutation allows tolerance regarding normality assumptions and the distribution of variables by randomization as well as test on small samples (Legendre and Legendre, 2012). For most of measurement data, similarity matrices were produced using Euclidean distance. For FA abundance data, as PERMANOVA is affected by null values (Legendre and Legendre, 2012), instead the more appropriate Bray-Curtis similarity index was used (Barbier et al., 2017; Leroy et



al., 2013). All PERMANOVA were performed on similarity matrices with 9 999 permutations of residuals under a reduced model. 2-crossed factors univariate PERMANOVA were performed on i) adults organ indices to test the impact of parental sound exposure (control, weak, and intense) and that of the spontaneous spawning (yes or no) on the weight allocation to reproduction, on ii) mortality and double ring rate during larval rearing to test the impact of parental sound exposure along day post-fertilization (on 27 dpf), on iii) larval survival, growth, size at metamorphosis and metamorphosis rate to test parental sound exposure and larval sound exposure (control, weak, intermediary and intense) interaction. One-way univariate PERMANOVA were performed on atrophied eggs ratio and Total Fatty Acid concentration to test the impact of parental sound exposure. One-factor multivariate PERMANOVA were performed on FA abundance data to test the impact of parental sound exposure. When significant for univariate PERMANOVA, differences between groups were analyzed with multiple comparison pairwise tests. When significant, differences were detected by multivariate PERMANOVA, similarity percentage breakdown (SIMPER, Clarke, 1993) were computed to determine which FA contributes the most for observed differences. Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions (PERMDISP) were carried out to evaluate the homogeneity of ratios and lengths in each condition.

III. Results

III.1. Reproductive success

During the exposure period, 3 or less scallops per sound treatment died without any level effect ($p = 0.9345$), and 8 spawning events happened without sound effect ($p\text{-perm} = 0.8449$) when intermediary treatment was discarded. Neither digestive gland index ($p\text{-perm} = 0.1433$) and muscle index ($p\text{-perm} = 0.3699$) vary with sound level. However, gonad index showed variability between sound level treatments ($df = 2$, pseudo-F = 5.0827, $p\text{-perm} = 0.015$) and between tanks where spawning happened or not ($df = 1$, pseudo-F = 58.968, $p\text{-perm} = 0.0001$) without interaction ($p\text{-perm} = 0.3109$). Gonad index was 22% lower for intense treatment (mean \pm SE = 21 ± 3.6 ; Figure 35-a) compared to the control (26.8 ± 2.5). Atrophied egg ratio differed between adults' groups ($df = 2$, pseudo-F = 3.1598, $p = 0.0464$; Figure 35-b) with higher values in the control



offspring ($3.2 \pm 0.7\%$) than in the weak sound level offspring ($1.3 \pm 0.3\%$). Hatching rate was 35.4%, 44.6%, and 38.8% for the control, low and intense treatment respectively.

III.2. Larval performance

III.2.1. Larval performance non-exposed to sound treatments

Veliger mortality rate differed according to the number of days post-fertilization (dpf) ($df = 25$, pseudo-F = 4.8026, p-perm = 0.0001) but not to parental sound exposure (p-perm = 0.4626) and without interaction between both factors (p-perm = 0.7076). Double ring rate differed among dpf ($df = 10$, pseudo-F = 30.438, p-perm = 0.0001) and parent exposure treatments ($df = 2$, pseudo-F = 9.2946, p-perm = 0.0006) without any interaction between them (p-perm = 0.3114). Double ring rate increased with time and was significantly higher for control ($20.7 \pm 1.1\%$) than for intense ($15.8 \pm 3.3\%$), and higher for intense parental treatment than for weak ($8.4 \pm 1.8\%$).

III.2.2. Larval sound exposure

Survival rate

Survival rate was very high (>99%) for young and old veligers without any sound level effect. For pediveligers, survival varied significantly among parental sound exposure treatments ($df = 2$, pseudo-F = 77.016, p-perm = 0.0001; Figure 35-c), with higher level for control ($98.8 \pm 0.6\%$) and decreasing from higher ($93.4 \pm 1.2\%$) to lower exposure sound treatment ($91.8 \pm 1.7\%$). Any larval sound exposure treatment effect (p-perm = 0.9952) were observed on pediveligers, as for interaction between factors (p-perm = 0.93349). There was a significant interaction between parental and larval sound exposure on post-larvae survival rate ($df = 6$, pseudo-F = 3.284, p-perm = 0.0139; Figure 35-d). No differences were observed between larval sound exposure levels for control, whereas survival rate for weak and intense sound treatments showed lower values in larvae submitted to weak sound intensity.

Maternal effects of pile driving sound on *Pecten maximus* (L., 1758) larvae first stages development

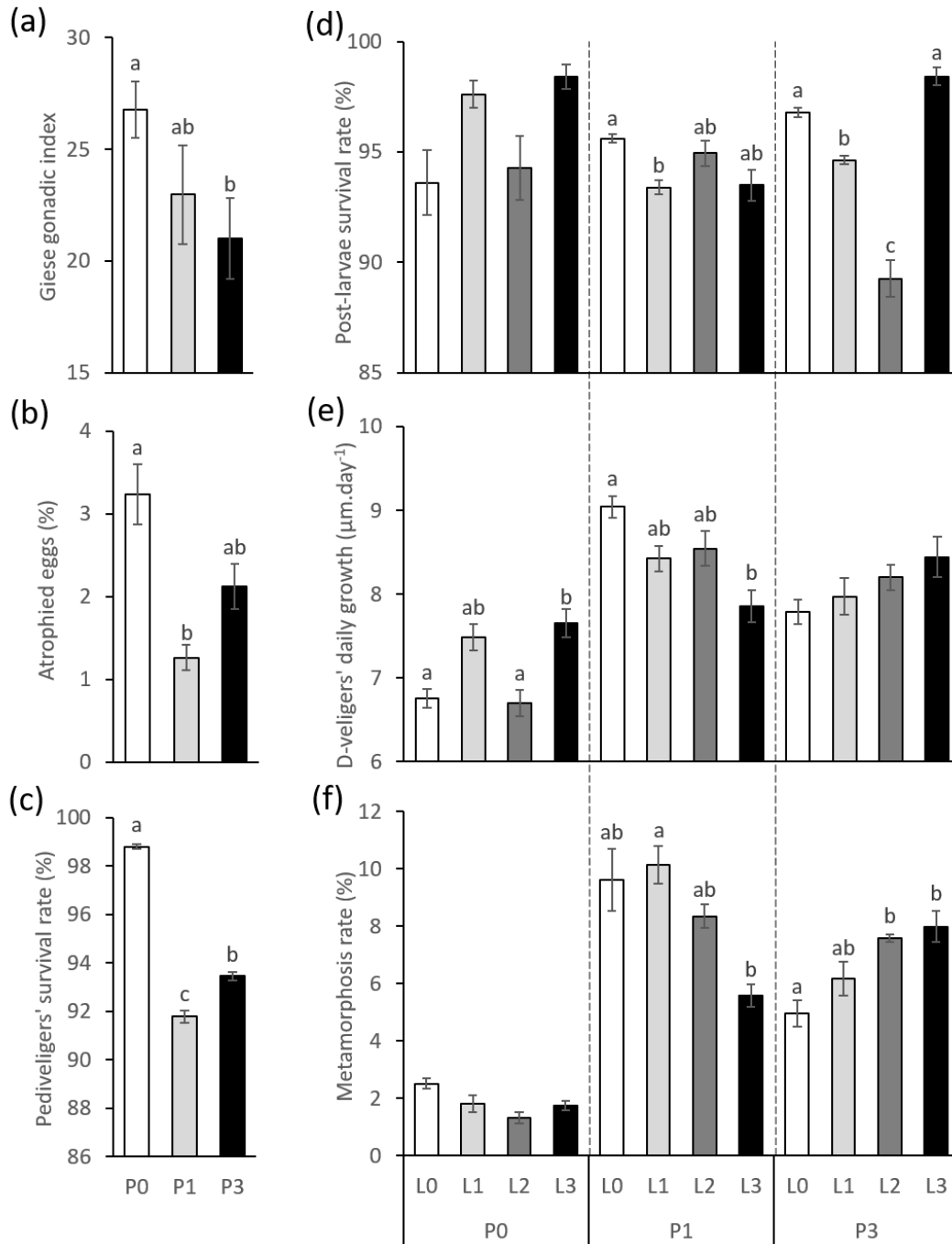
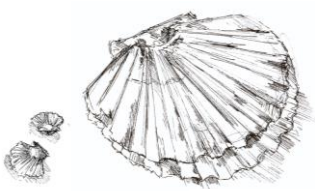


Figure 35: Results of the maternal effects of sound exposure (a) Giese gonadic index and (b) atrophied egg ratio (in percentage) of *P. maximus* adults exposed to increasing levels of pile driving (control P0, weak P1, intense P3). (c) survival rate of pediveliger larvae from exposed parents (in percentage). Adult (P0, P1, P3) and larval (control L0, weak L1, intermediary L2, intense L3) exposure interaction effect on (d) post-larvae survival rate (in percentage), (e) daily growth of D-veliger (in micro meters per day) and (f) metamorphosis rate of pediveliger (in percentage) (\pm standard error).

Groups annotated with the same letter do not differ significantly at $p\text{-perm} = 0.05$. (N(A) = 10 for P0 and P1, and 15 for P3; N(B) = 23, 22 and 21 for P0, P1 and P3; N(C) = 12 replicates/treatment; N(D) = 59, 52, 52, 50, 42, 42, 28, 39, 34, 40, 46, 41 respectively for cross-condition from left to right; N(E and F) = 3 replicates/cross-condition).

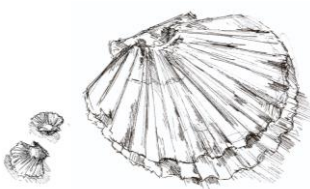


Growth rate

Complex effects of parental sound exposure and larval sound exposure were detected on D-veliger daily growth (Gd) with a interaction between parental and larval effect submitted to sound exposure (df = 6, pseudo-F = 2.357, p-perm = 0.0329 ; Figure 35-e). Globally, no differences were observed between larval treatments for batches from intensely exposed adults, nor between parental treatments for intense exposed larvae. For the other significant post-hoc comparisons daily growth rates varied from $6.7 \pm 2.3 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$ (control parents, intermediary larvae) to $9 \pm 1.7 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$ (weak parents, control larvae). Complex interacting effects between parental sound exposure and larval sound exposure also occurred on pediveliger daily growth (Gp) (df = 6, pseudo-F = 2.987, p-perm = 0.007) as followed: i) no differences between larval sound exposure treatments for control and weak parental treatment, ii) for intense parental exposure, mean daily growth of intermediary and intense larval treatment ($12.1 \pm 20 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$) were around twice than for control larvae ($6.8 \pm 15.2 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$), iii) for each larval sound exposure condition daily, growth rate was on average 6-fold higher for weak and intense parent treatment than control, and growth rate of intermediary larvae from intense parents ($12.4 \pm 15.2 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$) was higher than growth rate of intermediary larvae from weak parents ($8.24 \pm 18.5 \mu\text{m}\cdot\text{day}^{-1}$). By contrast, there was no effect of either parental sound exposure (p-perm = 0.9418) or larval sound exposure treatment (p-perm = 0.4845) exposure nor interaction (p-perm = 0.7159) on daily growth of Old-veliger. Similarly, there was no effect of parental sound exposure (p-perm = 0.3246) and larval sound exposure treatment (p-perm = 0.3104) nor interaction (p-perm = 0.2304) on daily growth rate of post-larvae.

Size at metamorphosis and post-larval growth

Size at metamorphosis for pediveliger differed significantly among parental sound exposure (df = 2, pseudo-F = 6.4287, p-perm = 0.0038) and larval sound exposure treatments (df = 3, pseudo-F = 3.4911, p-perm = 0.0309) without interaction (p-perm = 0.9192). In fact, pediveliger larvae from intense parents metamorphosed at a slightly larger size ($225.7 \pm 19.3 \mu\text{m}$) than those of control and weak adults (mean = $221.5 \pm 11.4 \mu\text{m}$) as did those exposed to intense ($226.8 \pm 12.9 \mu\text{m}$) compared to weak and intermediary levels (mean = $221.6 \pm 17.4 \mu\text{m}$). Growth after metamorphosis differed among parental sound exposure (df = 2, pseudo-F = 44.53, p-perm = 0.0001) but not among larval sound exposure treatments (p-perm = 0.7414) without interaction (p-perm = 0.223). Here, growth after metamorphosis was 61% higher for intense ($105 \pm 80.2 \mu\text{m}$)



than for weak ($65 \pm 55.5 \mu\text{m}$) and 5-fold higher than control parents treatment ($19.7 \pm 24.4 \mu\text{m}$). Interacting effects occurred for metamorphosis rate between both factors ($df = 6$, pseudo-F = 2.9238, p-perm = 0.0287; Figure 35-f) as followed: i) no significant differences between larval sound exposure treatments for control parents, ii) from weak exposed adults, metamorphosis rate of weak exposed larvae ($10.1 \pm 2.3 \%$) is higher than that of intense exposed larvae ($5.6 \pm 1.4 \%$), and iii) from intense exposed adults, metamorphosis rate of intermediary and intense exposed larvae ($7.8 \pm 1.2 \%$) is higher than that of control larvae. Moreover, for all larval sound exposure levels, the metamorphosis rate of control was always 4-fold lower than those of weak and intense parents' treatment.

III.2.3. Fatty acid analysis

Adults

A total of 37 or 42 FA were found in either muscle or digestive gland of adults (Supplementary Material 7). In the muscle, dominant fatty acids were 22:6 ω 3 ($25.85 \pm 0.9 \%$), 20:5 ω 3 ($18.94 \pm 1 \%$) and 16:0 ($17.63 \pm 0.69 \%$). We also found high proportion of 18:0 ($7.12 \pm 0.56 \%$), 20:4 ω 6 ($4.12 \pm 0.45 \%$) and 18:1 ω 7 ($3.66 \pm 0.38 \%$). In the digestive gland, dominant fatty acids were 16:0 ($18.21 \pm 1.45 \%$) and 20:5 ω 3 ($15.7 \pm 1.83 \%$). High proportion of 22:6 ω 3 ($8.94 \pm 1.27 \%$), 16:1 ω 7 ($8.45 \pm 0.77 \%$), 14:0 ($6.19 \pm 0.78 \%$), 18:4 ω 3 ($6 \pm 1.06 \%$), 18:1 ω 11 ($5.54 \pm 0.88 \%$), and 18:1 ω 7 ($5.22 \pm 0.39 \%$) were also found. Fatty acid profiles did not differ between parental sound exposure treatment for digestive gland (p-perm = 0.4868), but differed for muscle ($df = 2$, pseudo-F = 1.7366, p-perm = 0.0265). For adult muscle, Docohexanoic acid (DHA, 22:6 ω 3), Eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5 ω 3), and Palmitic acid (16:0) were the three most contributing FA to dissimilarities, with either 12.6 ± 0.2 , 12.6 ± 1.8 and $10.3 \pm 0.3 \%$ of the differences observed (SIMPER analyses), respectively. TFA did not differ neither within muscle (mean = $9.35.7 \pm 3.32 \text{ mg.g}^{-1}$, p-perm = 0.4795) or digestive gland (mean = $232.7 \pm 73 \text{ mg.g}^{-1}$, p-perm = 0.61991).

Larvae

A total of 49 fatty acids were identified in the larval samples (Supplementary Material 7). Dominant fatty acids were 16:0 ($15.7 \pm 1.78\%$), 22:6 ω 3 ($11.88 \pm 2.63\%$), 20:5 ω 3 ($10.52 \pm 2.02\%$) and 16:1 ω 7 ($10.18 \pm 3.32\%$). High proportions of 18:1 ω 9 ($6.63 \pm 1.45\%$), 18:1 ω 7 ($6.35 \pm 0.39\%$), 14:0 ($5.07 \pm 1.12\%$), 18:4 ω 3 ($4.76 \pm 0.74\%$), and 18:0



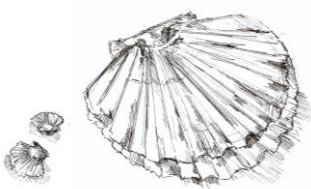
($4.65 \pm 1.4\%$) were also detected. Fatty acid profiles differed according to a parental sound exposure x stage interaction ($df = 6$, pseudo-F = 4.2836, p-perm = 0.0001). When focusing on particular developmental stages, no significant differences occurred in D-veliger FA profiles between parental sound exposure groups, whereas FA profiles of larvae from intense parents differed from weak and control parents in Old-veliger and Post-larvae. That was different in pediveligers where FA profiles of larvae from weak parents differed from those from both control and intense parents. Between Old-veliger, DHA contribute to the maximum dissimilarity with $18.6 \pm 5.5\%$ of the differences observed (SIMPER analyses). In case of significant differences in pediveligers, Palmitoleic acid (PA, 16:1 ω 7) and DHA were the two most contributing FA to dissimilarities, with either 19.6 ± 4.2 and $16 \pm 0.5\%$ of the differences observed respectively. For post-larvae, PA, DHA and EPA, contributed to 14.25 ± 1.8 , 14.2 ± 3.1 and $13.27 \pm 0.7\%$ of the total dissimilarity. TFA differs among stages ($df = 3$, pseudo-F = 26.171, p-perm = 0.0001) without significant parental sound exposure effect (p-perm = 0.2082) nor interaction (p-perm = 0.6207). TFA content of pediveliger larvae was 3-fold higher ($28.8 \pm 11.3 \text{ mg.g}^{-1}$) than the value assessed for the three other stages (mean = $9.85 \pm 3.7 \text{ mg.g}^{-1}$).

IV. Discussion

The present study demonstrated that noise pollution associated to pile driving impacts *Pecten maximus* at multiple life stages from adults to post-larvae, with interaction between soundscape experienced by parents during oogenesis and larval exposure.

IV.1. Direct impact of anthropogenic sound on adult maturation

Pile-driving sound exposure at various levels during 2.5 months did not induce over mortality of *P. maximus* adults. Such result contrasts with the work of Day et al., (2017) on another scallop species *Pecten fumatus* for which seismic pulses increased mortality 14 up 120 days after exposure. Animals were exposed to seismic pulses at a maximum SPLpp from 191 to 213 dB re 1 μ Pa, which is significantly more than our loudest treatment (187.6 dB re 1 μ Pa). Also our pile driving and Day's seismic spectrums



differ, even if both are constrained to low-frequencies. Finally, acoustic impacts seem species-specific and the two *Pecten* responses may differ in relation to their preferred habitat (Lillis et al., 2013).

Based on gonadic indices, we clearly show that adults great scallop's gonadic growth is reduced by high levels of pile-driving sound exposure ($> 187.6 \pm 2.4$ dB re 1 μ Pa) during maturation. Only few studies have dealt with such sound impact on the reproductive performance of invertebrates. However Lagardère (1982), exposing *Crangon Crangon* shrimp to low frequency (25 – 400 Hz) sound 30 dB. re 1 μ Pa higher than the control condition during 2 months, also observed a reduction in the reproduction rates of females carrying eggs, without any data on offspring performance. Of course, the reproductive effort in bivalves is highly influenced by abiotic factors, as high 'spring' temperature, photoperiod and food availability and quality enhance the gonad growth of *P. maximus* (Delauney et al. 1993. Soudant et al. 1996, Saout et al., 1999). Histological analyses coupled with gonad measurements is a reliable method to estimate stage development and the number of produced oocytes (Saout et al., 1999) and could be used to measure the delay of gonadic maturation observed under pile-driving exposure.

In pectinids, the adductor muscle and the digestive gland are the first and second storage organs, containing fatty acids but also mainly glycogen in muscle (Barber and Blake, 1981). Gonad maturation is directly related to energy allocation, in link with food uptake (Delaunay et al., 1993). When food is limiting or poor (mono-specific diet), energy required for gametogenesis is supplied by muscle and digestive gland (Paulet et al., 1995; Soudant et al., 1996). In the present study, the absence of difference in FA content of digestive gland related to sound exposure supports the idea that food uptake was not limiting, and that feeding behavior was not modified by pile driving sound exposure. The very few differences in muscle fatty acid profiles highlight that this tissue could be also a FA source for gametogenesis, used regardless of sound level exposure.

Few studies support the hypothesis that organisms exposed to a stress increase their metabolic needs reducing their allocation to gonadic maturation in response to a pollutant (Pessatti et al., 2002; Schmutz et al., 2021) or to pile driving sound (Spiga et al., 2016). We thus hypothesize that pile driving could reduce gametogenesis through such metabolic stress. Various stress proxies have been widely used to assess response to anthropogenic sound, like oxidative stress, hemolymph biochemistry, gene expression or protein activity (Charifi et al., 2017; Day et al., 2017; Peng et al., 2016; Roberts et al.,

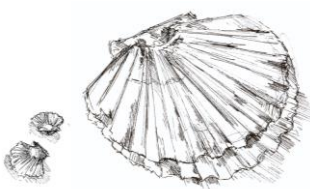


2015; Vazzana et al., 2016; Wale et al., 2016). Integrated those parameters to maternal effect studies should therefore be a perspective.

IV.2. Impact on larval quality

Great scallop parents kept under moderate pile driving sound conditions (weak parental exposure) spawn oocytes with lower abnormal rate and higher hatching rates than under ambient control conditions. That illustrate here that maternal effect is level dependent, as the number and the performance of eggs from parents that had experienced the noisiest environment do not differ from those originated from parents placed in the most silent (control) condition. If we refer to the evolutionary concept of ‘maternal effects’, in a non-optimal environment, one reproductive strategy consists in producing more performant eggs, as shown by Parker et al. (2012) for *Saccostrea glomerata* oysters exposed to elevated pCO₂ concentrations. Based on our results, we hypothesize that low noise conditions concentrate maternal investment in offspring quality, with mothers exposed to pile driving producing less but more performant eggs. Hatching rate and low atrophied eggs ratio are positively correlated to lipid content (Devauchelle and Mingant, 1991). We hypothesize that the maternal investment responsible of lower abnormalities and better survival goes through the lipid composition, and we suggest, as a perspective, to look at the FA content of the eggs. We also show that for all sound levels, parents exposed to pile driving sound produce larvae that display a better daily growth rate at D-veliger and pediveliger stages, higher metamorphosis rate and bigger size at metamorphosis. We can thus hypothesize that under noise stress *P. maximus* adults spend more investment in reproduction, not via the gonadic volume but by enhancing larval performances.

Others pollutants also induce maternal effect on offspring size, with consequences on their performances (Cox and Ward, 2002). In the example of *Daphnia magna*, Garbutt and Little (2017) showed that food-stressed mothers produce larger eggs more resistant to bacterial pathogens. Variation in larval size strongly can affect post-metamorphic performances of individuals: survival, growth and reproduction (Marshall et al., 2003). In a stressful environment, producing larger and fast-growing offspring is an adaptive strategy to spend less time in the water column, as in extending the larval phase of marine invertebrates raise the risk of predation or competition, with negative effects on post-



metamorphic survival (Pechenik, 1990). Such results account that parental pile driving exposure strongly influence offspring at egg stage but also accelerate the offspring development, thereby *amplifying* the effect of prior experience (Podolsky, 2006).

However, at post-larvae stage, parental sound exposure do not have any impact on daily growth rate and impacts survival rate in a less clear maternal pattern. It seems that process metamorphic processes *compensate* the differential performances at pre-metamorphic stages (Podolsky, 2006). The ontogenic impact of sound highlight the complex life cycle and disruptive metamorphosis of *P. maximus*. There is a carry-over of parental sound exposure effect into eggs and subsequent pre-metamorphic larval stages, which are really correlated. Roles of this pelagic phase of the life cycle is to feed and grow enough resist to predation, disperse and find an appropriate settlement site. Metamorphosis provides a radical reorganization of form and function of the larvae, which have to grow and reach adult maturity. Post-larvae stage is more autonomous from the carryover effect from precedent stages.

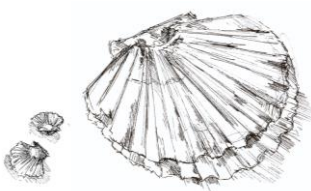
The differences in FA profiles of larvae between parental sound exposure groups were statistically significant, but slightly regarding to biological variance. Also larvae TFA concentration was not influenced by parental sound exposure so we conclude that it do not have a high influence on larvae feeding behavior, which is directly related to their FA content (Delaunay et al., 1993). Then, the differences in metamorphosis rate, growth and mortality attributed to parental sound exposure seem not related to modification of the energetic metabolism. The FA composition of the post-larvae we analysed was in accordance with the profile described by Gagné et al. (2010) for larvae fed with DTC diet. The few differences in the profiles could be explained by the difference in algal diet, as we add *Skeletonema costatum* in larval diet. In both experiment, larvae were sampled when showing more than 50% of double-rings, but it correspond to 29 dpf in our experiment (18°C rearing) and 23 to 27 dpf in Gagné et al. (2010) (20°C rearing). The great PUFA/SFA ratio proved that larvae were in good health state and so that our rearing conditions were fine.



IV.3. Impact on larval sensitivity to noise

Sensitivity of larvae to pile driving noise intensity depend of noise intensity submitted to parents. High pile driving sound exposure had contrasting effects on the daily growth of young D-veligers which was enhanced for batches originating from control parents, but was either unaffected or decreases for those originating from high or low sound level exposed adults, respectively. Thus, exposing adults to very stressful noisy conditions confers to the related first offspring stage a decreased sensitivity/resistance to noise. By contrast, pediveligers and post-larvae from control parents were not impacted by sound exposure, contrary to these larval stages from exposed parents showing sensitivity to pile driving sound. Thus, maternal effects in *P. maximus* exposed to pile driving sound increased the larval sensitivity to such noise in peri-metamorphic stages. Maternal effects in great scallop under pile driving sound seems highly complex, stage and level dependent. Before metamorphosis, weak parental exposure raised larvae performances but decrease their resistance to sound exposure. Only an intense parental exposure is sufficient to increase larval performance facing sound and maternal effect of high parental exposure is thus an advantage only in sonorous condition. Resistance to a stress can thus be a fitness cost in unstressfull conditions (Levinton et al., 2003).

However maternal exposure to noise does not clearly contribute to a better adapted response of offspring to sound or a better adults performance. Within that context, such maternal could not be considered as a strictly *Anticipatory Maternal Effect* (Marshall and Uller, 2007), but more as a *Transmissive Maternal Effect*. This kind of maternal effect could be adapted to recent pollutant (over an evolutionary time scale), like anthropogenic sound, to which species have not evolve an adaptative response (Marshall and Uller, 2007). Most of the studies that have dealt with maternal effect in marine invertebrates concerned the impact of temperature (Freuchet et al., 2015; Vehmaa et al., 2012), salinity (Torres et al., 2020), acidification (Parker et al., 2012; Thor et al., 2018), pollutant (Cox and Ward, 2002), or food supply (Garbutt and Little, 2017; Kasten et al., 2019). Indeed, major concerns exist about those stressors because they are mainly associated to climate change or anthropic pollution. Based on our work very similar maternal effects can also be observed on underwater noise pollution. We suggest that anthropogenic sound should be considered as a major stressor eliciting a modulation of larval performances through maternal exposure. Because there is a real deficit of data, we strongly advocate for the



development of dedicated work on maternal effect in bioacoustics. Indeed, current studies may misestimate the sound effect if adult exposure either reinforce offspring sensitivity or inversely if it brings resistance to noise pollution.

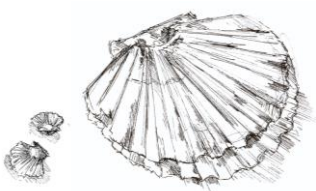
IV.4. Ecological meaning of and maternal sound impact

We show here strong effects of parental sound exposure on larval performances at pre-metamorphic stage. Early developmental stages are crucial through recruitment for population renewal particularly at the competent pediveliger stage, when larvae are able to prospect for a suitable place to settle and metamorphose. Evidence have been made that invertebrates larvae settle in response to natural (Lillis et al. 2013) or anthropic sound (Jolivet et al., 2016; Wilkens et al., 2012). Acoustic signal may be thus considered as a settlement cue (Lillis et al., 2014) as those associated to biofilms (Hudon and Bourget, 1981; Toupoint et al., 2012), texture (Le Tourneux and Bourget, 1988) or chemical composition or the seafloor (Yvin et al., 1985). Because *Pecten maximus* larval sensitivity to sound may change according to the nature and the level of the emitted sound experienced by the adults, selectivity to settlement cue could be partially inherited. If they don't encounter a favorable habitat, larvae are able to extend their larval period by delaying metamorphosis (Pechenik, 1990), but as their energetic reserves will decrease, they become less and less selective (Bayne, 1965). Larval selectivity modulates their dispersal potential, with larger larvae being more discriminant for a high-quality habitat and dispersing far from the maternal habitat (Pechenik, 1990). Increasing larvae size and improving larval habitat selectivity can thus be a maternal strategy to settle far away from a polluted habitat (Marshall, 2008). In the present set of experiments, larvae originating from exposed adults were larger, the metamorphosis rate after 4 days was higher, so that dispersal should be reduced and auto-recruitment close to the parental area should be favored. Maternal effect associated to pile driving sound could change via dispersal spatial and temporal scales, the connectivity between populations and habitat in a metapopulation scheme which is a major driving force of benthic biodiversity dynamics (Pilditch et al., 2015). In another experiment on *P. maximus* (Chapitre 2; Gigot et al. 2022, submitted), we show that sound can induce settlement in unsuitable habitat and that the response is highly dependent on the type of sound. If sound effect is higher than other cues, consequences could be mis-selection of the metamorphosis site.



In a stressful environment, maternal strategy can also evolve along a seasonal cycle and one individual can adopt several strategy along its life. When *Bugula neritina* colonies experience predation, they produce smaller offspring immediately afterwards, redirect resources into recovery from predation, and preserve resources for a future offspring in more suitable conditions, in order to increase future reproductive success (Marshall and Keough, 2004). As the great scallop experience multiple spawning event during the season (Paulet et al., 1995), maternal strategy facing noise pollution could differ. The present experimental design was defined to highlight the pile driving sound effect from the adults to the larvae but we did not investigate long term effects from juveniles up to next generation adults. As Marshall et al., (2003) showed that larger bryozoan larvae grow better and reproduce sooner than the smaller one we cannot exclude that exposure to noise pollution could have similar transmittable crossed generational effects.

Our study gives first evidence of maternal effect of sound in controlled laboratory conditions but result transposition to natural field situation should be hazardous as other selective pressures do interact. As an example, Dibattista et al. (2007) showed in *Negaprion brevirostris* shark that larger offspring may have higher initial growth but are more likely to suffer predation. Numerous studies have also shown that the consequences of maternal effects can relate on local environmental conditions (Marshall and Keough, 2004) and other parameters can act in synergy on larvae (Jolivet et al., 2016) and reshape the response to sound. Caution should thus be taken when assessing the potential consequences of maternal effect on offspring fitness.



Acknowledgements

We deeply thank all the Tinduff hatchery team for their technical support, their useful advises and their remarkable skill in larval production.

Funding

The work reported in this paper was a part of the PhD of Mathilde Gigot, funded by the CNRS. Additional financial support was provided by the IMPAIC project (*'IMPacts Acoustiques sur les Invertébrés de la baie de Saint-Brieuc'*), supported by Ailes Marines. This study is a contribution to the BeBEST2 International Research Project (CNRS INEE/LEMAR and UQAR/ISMER).

Declaration of competing interest

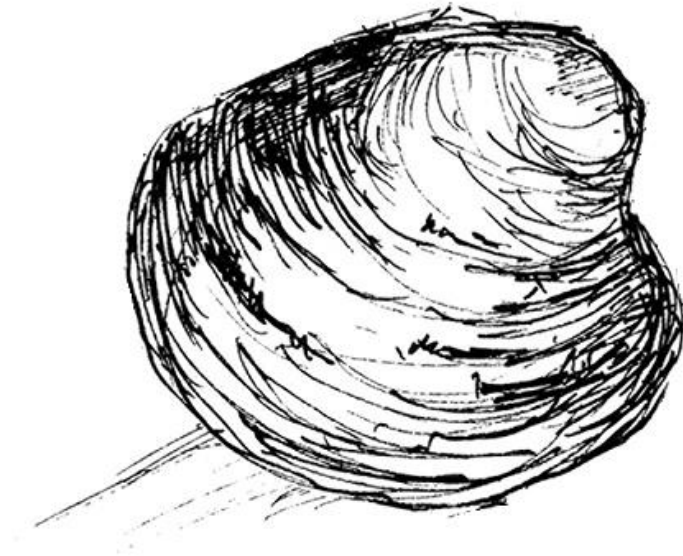
The authors declare that they have no financial interests or personal relationship that could have influence this work.

Ethics Approval

Ethics approval was not required for this study according to legislation about invertebrates.

Data statement

Original data used in the current study are available from the corresponding author on reasonable request.



© Liz Hascoët / Fovearts

Chapitre 4:

Physiological state
of *Venus verrucosa* (L., 1758) larvae
modulate the response to pile driving
and drilling underwater sounds



Synthèse

Après avoir identifié dans les chapitres 2 et 3 les effets des sons anthropiques sur la coquille Saint-Jacques, nous avons réalisé une dernière expérience similaire sur une autre espèce de bivalve afin de mettre en évidence de potentiels effets spécifiques à chaque espèce. Ce quatrième chapitre a donc pour modèle d'étude la praire *Venus verrucosa*, un bivalve vivant sur les côtes françaises et dont l'aire de répartition chevauche les sites potentiels d'installation de parcs éoliens. Cette fois, nous avons prolongé la durée de l'exposition jusqu'à neuf ou quinze jours selon le stade, au lieu de quatre précédemment. Nous avons aussi utilisé un protocole d'extraction lipidique différent des précédentes expériences pour séparer les acides gras neutres des polaires et ainsi quantifier les fractions de lipides de réserve et structurels. Comme l'expérience présentée dans le chapitre 2 n'avait pas montré d'effet de l'alimentation sur l'état physiologique, nous avons décidé d'utiliser cette fois la température pour faire varier la condition de nos larves et tester son interaction avec l'exposition au son.

La température contrôle de nombreux paramètres physiologiques des animaux ectothermes et modulent leurs performances. Nous avons donc élevé deux lots de larves à 15 et 20°C pour produire des larves avec deux états physiologiques et deux contenus lipidiques distincts, comme démontré par une étude précédente. Nous avons montré que la hausse de la température provoque une augmentation du taux de croissance et que les réponses des larves sont hautement ontogéniques : à 20°C, les larves de praire accumulent plus de lipides mais au stade péri-métamorphique uniquement, en lien avec une diminution de la mortalité. Notre hypothèse est que le stress thermique entraîne une hausse du métabolisme qui peut être compensée, à l'approche de la métamorphose, par de plus fortes capacités d'alimentation. A l'inverse, au stade véligère, la hausse du métabolisme ne peut être compensée par la larve dont le contenu lipidique repose surtout sur le transfert de la mère à l'œuf.

Nos résultats montrent que les impacts des sons de battage et de forage sur les praires sont similaires et varient en fonction des larves, de leur stade et du niveau sonore d'exposition. Le bruit augmente légèrement l'accumulation de lipides dans les membranes des véligères sans impact sur leurs performances alors qu'au stade



pédivéligère, le son réduit le contenu lipidique. Moins riches en lipides, les larves pédivéligères pourraient potentiellement être moins sélectives mais aucun effet sur la métamorphose n'a été détecté. A l'inverse, elles semblent diminuer leur prospection sur le substrat.

Enfin, l'état physiologique modifie la réponse aux bruits : il semblerait que le stress thermique réduise la résistance au stress acoustique. Réciproquement, l'exposition aux sons anthropiques semble réduire les mécanismes mis en place par les larves pour s'adapter au stress thermique. L'interaction entre les facteurs son et température démontre que l'état physiologique des larves de praires module la réponse aux bruits.



Physiological state of *Venus verrucosa* (L., 1758) larvae modulate the response to pile driving and drilling sounds

**Mathilde Gigot ^{1*}, Réjean Tremblay ², Julien Bonnel ³,
Laurent Chauvaud ¹, Frédéric Olivier ⁴**

To be submitted in special issue of *Frontiers in Marine Science*

¹ Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR) UMR 6539
UBO/CNRS/IRD/Ifremer, rue Dumont D'Urville, 29280 Plouzané, France

² Institut des Sciences de la Mer, Université du Québec à Rimouski, 310 Allée des
Ursulines, Rimouski, Québec G5L 2Z9 Canada

³ Woods Hole Oceanographic Institution, Applied Ocean Physics and Engineering
Department, Woods Hole, MA 02543, USA

⁴ Biologie des Organismes et Écosystèmes Aquatiques (BOREA) UMR 8067 MNHN,
CNRS SU, IRD 207, UCN, UA, 61 Rue Buffon CP 53, 75005 Paris, France



Abstract

Marine coastal environments are under many anthropic pressures. Because of a constant growth of marine human activities, the noise is now recognized as a new form of pollution. Sounds related to marine traffic and seismic exploration are known and studied for decades but the development of Marine Renewal Energies introduce new sonorous perturbations in the environment. Wind farm installation requires pile driving and drilling operations that produce low frequency sounds at high sound pressure level. Expansion of offshore wind farm is exponential around the world, making imperative impact studies. Noise impact is poorly studied on invertebrate's species compared to marine mammals, but few researches have shown that sound can trigger bivalve settlement. However, population renewal of a species is based on larval recruitment and then on larval survival and performances. We conducted therefore an experimental study to assess the effects of pile driving or drilling sounds on the larvae of the temperate bivalve *Venus verrucosa*. In ectothermic animals, temperature modify the organism's physiology resulting in performance variability. We hypothesize that temperature modulation could change larval response to noise and explore here the potential interacting effects of temperature and noise.

Using two distinct rearing temperatures, different physiologically batches of larvae were produced with contrasted FA content. We demonstrate that effect of temperature and noise were ontogenic dependent and modulated larvae performance at peri-metamorphic stage, acting on the metamorphosis dynamic. At pediveligers stage, a strong interaction between both factors indicated that response to noise was highly related to larval physiological state. Finally, we suggest that underwater noise reduce the compensatory mechanisms established to balance the temperature increase.

Keywords

Anthropophony, energetic metabolism, *Venus verrucosa*, larval recruitment, metamorphosis trigger.



I. Introduction

Thermal-tolerance is species specific (Rayssac et al., 2010a) and each species occupies a particular thermal niche of optimal functioning and outside which it may fail to survive. Within its thermal range, temperature controls various essential features of an ectothermic organism's physiology: it alters chemical and enzymatic reactions, rates of diffusion, membrane fluidity, and protein structure (reviewed in Sokolova, 2021), resulting in performance variability. The present work focus on an ectothermic infaunal bivalve species, the warty venus *Venus verrucosa*, living on *Posidonia* seagrass habitats, detritic sandy or coralline rhodoliths bottoms to a depth down to 30m and has a great commercial interest (Arneri et al., 1998). *V. verrucosa* displays a wide thermal tolerance that explains its large distribution in the Atlantic from Norway to South Africa, and in the Mediterranean Sea (Poppe and Goto, 1993). Recently, Forêt et al. (2020) showed that rearing temperature modulates physiological profiles of *V. verrucosa* as juveniles reared at 20°C contained 2 to 3 fewer lipids that those reared at 15°C. As energetic reserve, like lipid content is positively correlated with the survival of bivalve larvae (Rayssac et al., 2010a), temperature modulation could have long-term impacts on fitness. Moreover, energy metabolism modulates the responses to multiple stressors (Sokolova, 2021), and temperature is known to interact with many other factors. As an example, Cherkasov et al. (2007) showed that temperature stress amplifies the toxicity of cadmium leading to elevate oxidative stress in mitochondria, which may have important implications for the survival of *Magallana gigas*. Reciprocally, cadmium pollution reduce the thermal tolerance of *M. gigas* (Lannig et al., 2006).

After the recognition of aquatic anthropogenic noise, as a new form of pollution (Barber et al., 2010; Slabbekoorn et al., 2010) and their important annual increase (Tournadre, 2014) (Chapman and Price, 2011), several recent studies have been oriented on this topic in marine invertebrates and showed sounds impact on behavior (Fewtrell and McCauley, 2012), oxygen intake (Regnault and Lagardere, 1983; Wale et al., 2013a), food uptake (Charifi et al., 2017; Wale et al., 2013b), growth (Lagardère, 1982), gene expression (Peng et al., 2016) and could even induce severe injuries (André et al., 2011). Larval development is not insensitive and some studies showing impacts (Branscomb and Rittschof, 1984; Aguilar de Soto et al., 2013; Gigot et al. in revision; Jolivet et al., 2016; Lillis et al., 2015; Wilkens et al., 2012). This is particularly pertinent in the context of



renewable energy devices installation using drilling and pile driving operations (Norro et al., 2013). Pile driving noise results in short impulses with high-level sound pressure and broadband spectrum below 1kHz ($SPL_{p-p} = 205$ dB re 1 μ Pa @ 100 m; Robinson et al. 2013). Drilling is characterized by a continuous broadband sound, with maximum energy between 100 Hz and 10 kHz ($SPL_{rms} = 184$ dB re 1 μ Pa @ 1m; Kyhn et al., 2014). Offshore wind farms constantly grown in size and number, and global capacity could increase 7 fold by 2030 (*Global Offshore Wind Report 2021*). Moreover, wind farms usually settle in shallow coastal water that overlaps with rich biodiversity areas (Ramirez et al., 2020).

The main aim of this study was to test if temperature could modulate the sensitivity of competent pediveliger larvae of *V. verrucosa* to anthropogenic noise. We hypothesize that changing the acoustic soundscape may modify the settlement dynamics (Eggleston et al., 2016), as observed in epifauna species including blue mussel *Mytilus edulis* (Jolivet et al. 2016) and great scallop *Pecten maximus* (Chapitre 2; Gigot et al. submitted). As temperature mainly influences the physiological state of bivalve larvae by modifying the lipid composition (Barret et al., 2016; Pernet et al., 2007a; Rayssac et al., 2010a), a multi-stressor approach was applied to test the hypothesis that the physiological status of larvae, in terms of energy reserves and fatty acid composition of tissues, modulate their sensitivity to sound. Lipids constitute the main endogenous energetic reserve in bivalve larvae (Gallager et al., 1986; Holland and Spencer, 1973; Whyte et al., 1991). Two larval batches were produced at different rearing temperature in a view to obtain contrasted TFA contents and profiles, as already shown by Forêt et al. (2020) on young juveniles of *V. verrucosa* and exposed them to pile driving and drilling sound. Larvae were exposed at pre-metamorphic veliger and peri-metamorphic pediveliger stages. Our main hypothesis was that lipid accumulation and membrane fluidity change in response to temperature exposure impacting larval development, particularly the metamorphosis success, and that this response could be amplified by the addition of anthropogenic sounds in the environment.



II. Materiel and Method

II.1. Thermal modulation of physiological state

Adults were collected by dredge in the Bay of Brest on a sandy bottom of 10 to 15m depth, between the ‘Bindi’ sandbank (48°18.449’N, 4°25.374’W) and ‘Penn al Lann’ (48°19.495’N, 4°21.562’W) in January 2021 and reared at the ‘Ecloserie du Tinduff’ (Plougastel-Daoulas, France). In tanks filled with coarse sediment and 5- μ m filtered seawater, adults were fed continuously with DTCS diet (*Diacronema lutheri*, *Tisochrysis lutea*, *Chaetoceros neogracilis*, *Skeletonema marinoi*; DT $\frac{2}{3}$ CS $\frac{1}{3}$ ratio) during gametogenesis.

Spawning was induced by thermal choc (Buestel et al., 1982) from 14 to 20°C on 30 adults chosen for their gonad maturation by visual control. Spawning females and males were isolated when starting emitting gametes (Supplementary Material 11) and cross-fertilization was performed as described by Beaumont and Budd (1983). The resulting eggs (80 ml⁻¹) were incubated for 48h at 18°C in cylindro-conical tanks filled with 1 μ m filtered, U.V. and 9 ppm of erythromycin treated seawater (salinity = 33 psu; temperature = 19.5°C). Two days after fertilization (2 dpf), trocophore larvae were sieved and transferred at larval tanks at two different temperature conditions, 15 and 20°C, and 40 larvae.ml⁻¹. Every day, water was renewed, larvae were sieved for counting, dead individuals were removed, and a DTCN diet (N for *Nannochloropsis oculata* ; 3:3:2:2 ratio) at 40 cells/ μ l (*Tisochrysis lutea* equivalent; Helm et al., 2004) was added in the tanks and replaced by a DTCSN diet (1:1:1:1) when pediveliger stage was reached. We conducted the experimental protocol described in Figure 36, with two experiments at veliger (section 2) and pediveligers stage (section 3). At first day (d0) of veliger and pediveliger experiments, larval samples were fixed in 4% formaldehyde until further abundance counting (section 1).

Sampled larvae were counted and measured under a microscope (Zeiss Axioscope A1, x40 magnification) equipped with a digital camera (Moticam 3.0 10+). Empty shells were counted as dead larvae and the ratio between dead and alive larvae in each sample was calculated to assess the mortality rates at d0. Shell length, from the umbo to the most distant part of the shell, was measured via the Motic Images plus 3.0 software, on 100 individuals to calculate mean daily size. Growth rates were then calculated for



Physiological state of *Venus verrucosa* (L., 1758) larvae modulate the response to pile driving and drilling underwater sounds

veliger/pediveliger and 15/20°C batches separately by dividing size at the start of the experiment (d0) by the number of days since fertilization (dpf).

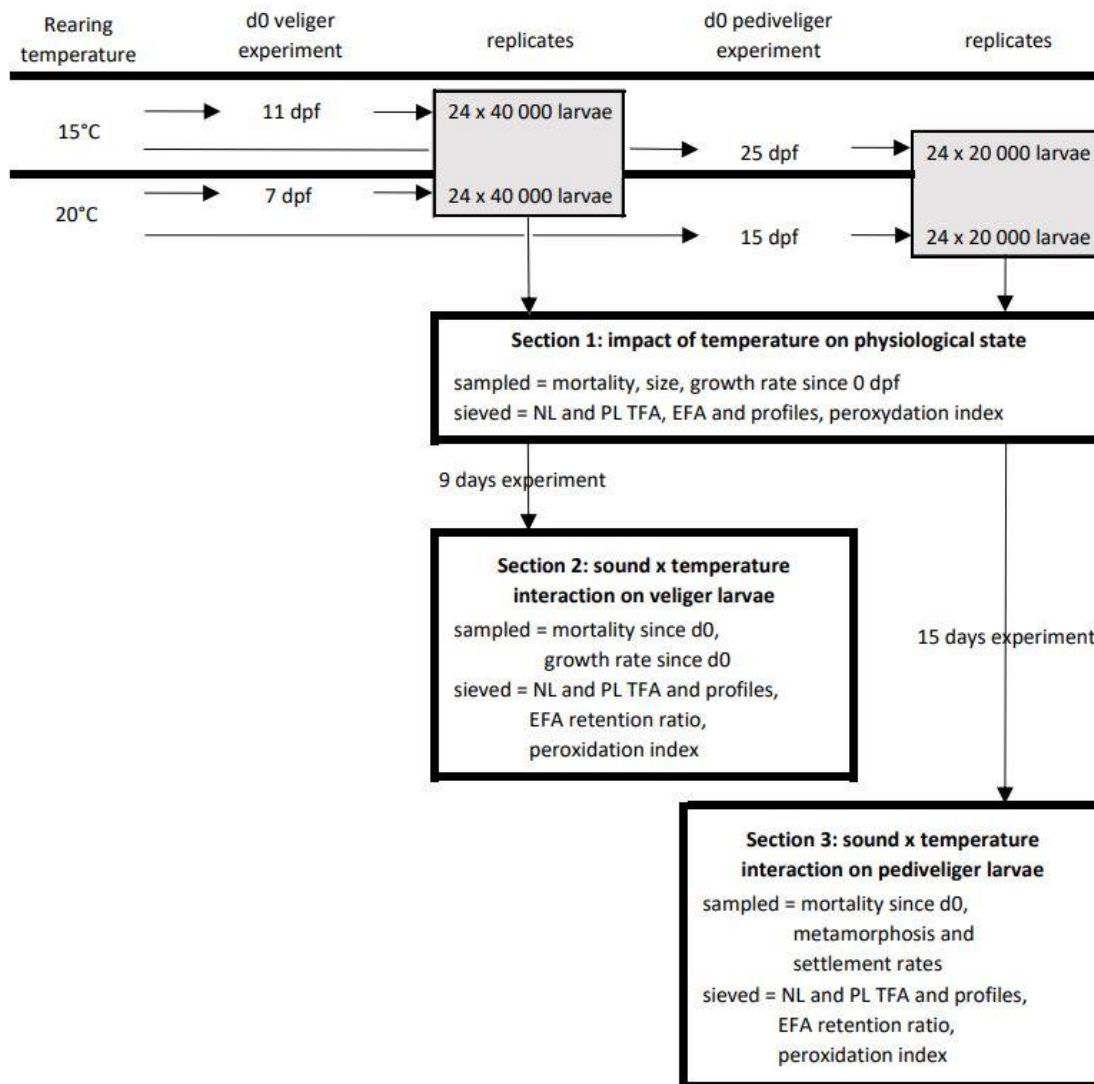


Figure 36: Graphical representation of the experimental protocol. Two batches of *Venus verrucosa* larvae were reared at 15 and 20°C. After 11 or 7 dpf and 25 or 15 dpf depending on the batch, veliger and pediveliger larvae replicates were sampled and sieved to determine the impact of temperature on their physiological state. Then veliger and pediveliger replicates were separately exposed to 2 temperatures (15 and 20°C) and 4 levels of sounds (control, low and high pile driving and high drilling) during 9 and 15 days. At the end of the experiments, larvae were sampled and sieved to determine potential interaction between both factors.



At d0 of veliger experiments, 6 batches of 40 000 larvae from 15 and 20°C populations were sieved on GF/F filters (pre-burned and pre-weighted) and stored at -80°C. At d0 of pediveliger experiments, 6 batches of 20 000 larvae from both populations were sieved on filters. We also filtered DTCSN and DTCN diet (4 replicates of each) on GF/F filters that were stored at -80°C until fatty acid analyses.

To assess the larval physiological state, we analyzed the fatty acid content of 15 and 20°C larval batches from the first day of veliger and pediveliger experiment (N = 6 for each experiment), as well as the diet (N = 6). GF/F filters were first lyophilized, weighted, and lipids were extracted following the (Folch et al., 1957) procedure using dichloromethane–methanol instead of chloroform as modified by (Parrish, 1987). Extracts were separated into neutral (NL) and polar (PL) fractions by column chromatography on silica gel micro-columns (30×5 mm i.d., packed with Kieselgel 60, 70–230 mesh; Merck, Darmstadt, Germany) using chloroform:methanol (98:2, v/v) to elute neutral lipids and methanol to elute polar lipids (Marty et al., 1992). The fractions eluded were evaporated under nitrogen vacuum, fatty acids were methylated following as modified method from (Lepage and Roy, 1984). The resulting fatty acid methyl esters (FAMES) of neutral and polar fractions were concentrated in hexane and the neutral fraction was purified on an activated silica gel with 1 mL of hexane:ethyl acetate (v/v) to eliminate free sterols. FAMES were analyzed in the full scan mode (ionic range: 50–650 m/z) on a Polaris Q ion trap coupled multichannel gas chromatograph “Trace GC ultra” (Thermo Scientific, MA, USA) equipped with an autosampler model Triplus, a PTV injector and a mass detector model ITQ900 (Thermo Scientific, MA, USA). Separation was performed through a Supelco Omegawax 250 capillary column (30 m x 250 µm x 0.25 µm film thickness). Initial oven temperature was 100°C for 2 min, then 140°C for 1 min and was increased at a rate of 10°C min⁻¹ until it reached 270°C for 15 min. Injector temperature was 90°C and a constant helium flow of 1.0 mL min⁻¹ was used. A volume of 1 µL was injected.

Fatty acids (FA) were identified and quantified by comparing retention times and mass spectrum with known standards calibration curve with concentration ranging from 0.5 to 20 µg/ml (Supelco 37 Component FAME Mix Supelco Inc., Belfonte, PA, USA) with the use of Xcalibur v.2.1 software (Thermo Scientific, Mississauga, ON, CA). FAs are designated as X:YωZ, where X is the number of carbons, Y the number of double



bonds, and Z the position of the ultimate double bond from the terminal methyl group. We report values of each FA as absolute concentrations ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) or percentage of total FA (TFA) for NL and PL separately. Here we present the concentration values of NL and PL for three Essential Fatty acids (EFA), arachidonic acid (ARA, 20:4w6), eicosapentenoic acid (EPA, 20:5w3) and docosahexaenoic acid (DHA, 22:6w3).

All data analyses were performed on PRIMER7 software, using the PERMANOVA + package. We performed analysis of variance for univariate or multivariate data on the basis of resemblance using 10 000 permutation (Legendre and Legendre, 2012) under a reduced model. Thereby, PERMANOVA can be applied to small samples without assessing the normality of distribution (Legendre and Legendre, 2012). Similarities matrices were produced using Bray-Curtis or Euclidean distance on fatty acid profiles and all other data, respectively.

For both veliger and pediveliger stages univariate 1-factor PERMANOVA were performed separately on d0 data including size, growth rate, TFA and EFA concentration in NL and PL separately to test the impact of rearing temperature (15°C and 20°C). We also conducted a multivariate PERMANOVA on the whole FA profiles for both NL/PL fraction and for both veliger/pediveliger stage. When significant difference in FA profiles was detected ($p\text{-perm} < 0.05$), similarity percentage breakdown (SIMPER, Clarke, 1993) were computed to determine which FA contributes the most for the difference.

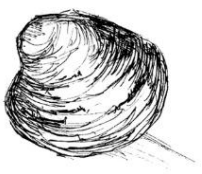
II.2. Sound x temperature interaction on veliger larvae

Exposition to drilling and pile driving sounds were realized in the *Larvosonic* system (Chapitre 1; Olivier et al. in revision) which includes a main 800 l tank where a Clark Synthesis AQ339 Diluvio™ underwater speaker (<https://clarksynthesis.com/aq339/>) connected to a power amplifier allows sound emission to six 5l-cylinders (independent replication units above the speaker) half-immersed in this water bath. Expanded Polystyrene diffusion panels (Vicoustic ©; <http://www.vicoustic.com>) fixed on the internal walls of the main tank attenuate reverberation and resonance from reflective boundaries (Duncan et al., 2016; Gray et al., 2016). Because invertebrates lack gas-filled organs classically used to sense the pressure component of sound, they are sensitive to the motion of water particles via statocysts



(Mooney et al., 2012; Popper and Hawkins, 2018). However, in the *Larvosonic* system when sound level decreases, both acoustic pressure and particle motion decrease by exactly the same level (Chapitre 1; Olivier et al. in revision). Emission levels were adjusted by recording 30s of sound at the center of each tank using a RTSYS EA-SDA14 (<https://rtsys.eu/>) underwater acoustic recorder (sampling frequency of 78 kHz, 32-bit resolution) equipped with a HTI-96-min hydrophone (sensitivity = -165 dB re 1V.μPa⁻¹). The pile driving sound sequence was recorded during the building phase of an offshore marine wind-farm in the North Sea (depth around 30 m, SOMME database) whereas drilling sound sequence corresponds to a recording of geotechnical drilling made in June 2018 at 200 m from the boat operating (SOMME database). Pile driving is an impulsive sound (one 200 ms impulse every 3 s) dominated by low-frequencies (40 - 800 Hz). Drilling is continuous and its spectrum is characterized by high level in the 150 - 600 Hz and 4000 - 7000 Hz frequencies ranges. Different *Larvosonic* tanks (8) with non-filtered seawater were deployed equitably in two controlled rooms (15°C and 20°C) under a 12:12h photoperiod. In each room, we generated drilling at high intensity (called D) in one mesocosm (SPL_{rms} = 175.4 ± 2.3 dB re 1V.μPa⁻¹), two increasing level of pile driving (P and P+) in two other mesocosms (SPL_{pp} = 147.6 ± 2.5 and 187.6 ± 2.4 dB re 1V.μPa⁻¹), and no emission in the fourth control tank (ambient sound SPL_{rmsC} = 98.8 ± 0.8 dB re 1V.μPa⁻¹). Such levels were consistent with ambient sound levels recorded in temperate coastal environments of the western English Channel with contrasting wind conditions (Mathias et al., 2016).

Veliger experiment started when larvae reached ± 124 μm in length (Supplementary Material 12), 7 dpf for larvae reared at 20°C and 11 dpf for those reared at 15°C. On the first day of the experiment, cylinders were filled with 5 l of 1μm filtered U.V. treated seawater and 9 ppm of erythromycin and 40 000 veliger larvae were introduced into each of the 48 cylinders. Drilling and pile driving sound were emitted following 19:5h and 6:6h on:off cycles, matching the foreseen on site work conditions (Ailes Marines personal communication), for 9 days. Larvae were fed once a day at 40 cells/μl concentration with mix algae as already described. Every 3 days dead and alive larvae were sieved and water was renewed. At the end of veliger exposure (day 9) (Figure 36, Section 2), larvae were sieved and concentrated in 500 ml beakers were 3 samples of 1ml were taken and fixed with 4% formaldehyde. The remaining larvae were sieved on GF/F filters and stored at -80°C until further analyses.



Mortality rates were assessed by the number of empty shells in samples collected at d9 (N = 48) subtracted by the means mortality rate at d0. For each of the 48 samples, shell length from the umbo to the most distant part of the shell was measured on 33 individuals per sample. Daily growth rate was obtained by subtracting mean size at d0 to sizes at d9 and dividing by 9. Neutral and polar fatty acid content and composition of the 48 batches of larvae collected at d9 were assessed through methods described in section 1. We calculated absolute concentrations of total FA (TFA) for NL and PL separately, but also FA profiles (%) and EFA selective retention ratio (ratio between PL of FA contained in larvae and the concentration of the same FA in diet to investigate potential selective retention).

For each parameter separately (mortality rate, daily growth rate, TFA concentrations, FA profiles, EFA ratios and peroxidation index), two-ways PERMANOVA were performed to assess the impact and potential interaction between temperature (15°C and 20°C) and sound (C, D, P and P+). Significant differences were analyzed by multiple comparison pairwise tests, and FA that contribute the most of the significant difference comparing FA profiles were assessed by similarity percentage breakdown (SIMPER).

II.3. Sound x temperature interaction on pediveliger larvae

Pediveliger were exposed to similar sound and temperature treatments as for veligers except for the following points. The experiment was started when pediveligers reached 190 µm mean length (Supplementary Material 12) at 15 and 25 dpf for 20°C and 15°C batches, respectively. 20 000 pediveligers were introduced in each of the 48 cylinders and sound treatments lasted 15 days. At each seawater renewal (days 3, 6, 9, 12 or 15), each cylinder was gently rinsed over a 60µm square mesh sieve to collect swimming larvae and keep them in a 500ml beaker. Crawling larvae were detached from the walls and bottom of each cylinder by a gentle water jet and set apart. 3 samples of 1ml were taken in both swimming and crawling larval fraction for further counting. At days 9 and 12, the remaining crawlers were sieved on GF/F filters and swimmers were



put back up into the cylinders. At day 15, both fractions were sieved on GF/F filters and stored at -80°C (Figure 36, Section 3).

Mortality rates at d9, d12 and d15 were assessed for each of the samples (N = 48) by counting empty shells and subtracting the d0 mortality rate. We used the presence of demarcation between de Prodissochonch II and the Disscochonch shells as a criterion of metamorphosis (Martel et al., 1995) to determine metamorphosis rates. As at days 9 and 12, the crawler fraction was removed from the cylinders, we integrated the mortality and metamorphosis rate of those fractions in the mortality rate of the following samples. M_{9C} is the number of metamorphosed larvae in the crawlers fraction at day 9, M_{12C} is the number of metamorphosed larvae in the crawlers fraction at day 12, $M_{15C\&S}$ is the number of metamorphosed larvae in the crawlers and swimmers fraction at day 15, X_{9C} is the number of alive larvae in the crawlers fraction at day 9, X_{12C} is the number of alive larvae in the crawlers fraction at day 12, $X_{15C\&S}$ is the number of alive larvae in the crawlers and swimmers fraction at day 15. Cumulative metamorphosed rates at day 15 (C_{15}) is:

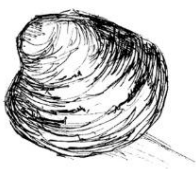
$$C_{15} = \frac{M_{9C} + M_{12C} + M_{15C\&S}}{X_{9C} + X_{12C} + X_{15C\&S}}$$

Calculation of the mortality rate follow the same pattern, with number of dead larvae instead of metamorphosed and total larvae instead of alive ones.

Neutral and polar fatty acid content of the 96 batches of larvae collected at d15 was assessed by previously described methods (section 2). Swimmer and crawler fractions of a same cylinder were pooled so that analyses could be performed on 48 replicates.

We performed PERMANOVA as described in section 1. For each parameter separately (mortality rates, FA profiles, TFA concentrations, EFA ratios and peroxidation index), 2 crossed-factor PERMANOVA were performed to assess the impact and potential interaction between temperature (15°C and 20°C) and sound (high-level drilling (D) or low and high level of pile driving (P and P+) separately). Significant differences were analyzed by multiple comparison pairwise tests and SIMPER analyses.

For each parameter separately (mortality rate, metamorphosis rate, settlement rate, TFA concentrations, FA profiles, EFA ratios and peroxidation index), two-ways PERMANOVA were performed to assess the impact and potential interaction between temperature (15°C and 20°C) and sound (C, D, P, P+). Significant differences were analyzed as described in section 2.



III. Results

III.1. Thermal modulation of physiological state

Daily growth rates varied according rearing temperature at veliger and pediveligers stage (Table 7b). Growth was 55% and 67% higher for either veliger or pediveliger larvae reared at 20°C than 15°C (Table 7a), but due to shorter rearing time there was no size difference between both thermal batches at the start of both experiment for veligers and pediveligers larvae (Table 7b).

FA profiles varied according to temperature at veliger stage (Table 7b) with abundance of 16:1w5, 20:5w3, 18:1w9 and 16:0 in NL, or 22:6w3, 18:0, 16:0, 16:1w5, 21:0 and 20:5w3 in PL fraction contributing to half of the differences (SIMPER analyses; Supplementary Material 8(a) and 8(b)). At the pediveliger stage, FA profile varies according to temperature in the NL fraction but not in the PL fraction (Table 7b), with variations in 16:0, 20:5w3, 16:1w5 and 22:6w3 contributing to half of the differences (SIMPER analysis; Supplementary Material (c)).

At veliger stage, TFA concentration varied according to rearing temperature in NL but not in PL (Table 7b). Veligers reared at 15°C concentrated 57% more TFA in the neutral fraction than those reared at 20°C (Table 7a). At pediveligers stage, no impact of rearing temperature on TFA concentration was detected neither in the neutral or in the polar fraction (Table 7b).

Concentration of EFA in the neutral fraction of veliger larvae also varied according to rearing temperature for 20:4w6, 20:5w3 and 22:6w3 (Table 7b). 15°C veligers accumulated 1.7, 1.9 and 1.5-fold more 20:4w6, 20:5w3, and 22:6w3 in their NL than those reared at 20°C (Table 7a). Concentration of 20:4w6, 20:5w3 and 22:6w3 did not vary at veliger stage in the polar fraction and at the pediveligers stage for neither neutral and polar fraction (Table 7b). Peroxidation index did not vary according to rearing temperature at veliger and pediveligers stage (Table 7b).



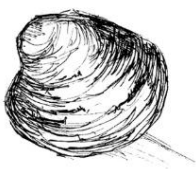
Table 7: Thermal modulation of physiological state. (a) Mean mortality rate, size, growth rate, peroxidation index and TFA, 20:4w6, 20:5w3 and 22:6w3 concentrations in Neutral and Polar fractions ± Standard Deviation, of Venus verrucosa veliger or pediveliger larvae reared at 15 or 20°C before starting sound experiments. Veliger and pediveliger data were analyzed separately; values annotated with different letters or different number of stars differed significantly at p-perm < 0.05. (b) Results of the statistical analyzes performed on Table 1a data. The degrees of freedom (df), the ratio of between cluster variance to within cluster variance (pseudo-F) and the probability value (p-perm or p(MC)) are indicated for each PERMANOVA, testing the impact of temperature on veliger's or pediveliger's parameters. Statistical values for PERMANOVA on FA profiles of Neutral and Polar fractions are also indicated. Significant p-perm are in bold.

(a)

stage	temperature (°C)	mortality (%)	size (µm)	growth (µm/day)	TFA (mg/g)		20:4n6 (mg/g)		20:5n3 (mg/g)		22:6n3 (mg/g)		peroxydation index
					NL	PL	NL	PL	NL	PL	NL	PL	
veliger	15	6.75 ± 0.3	124.44 ± 0.76	11.31 ± 0.07 a	8.15 ± 0.98 a	2.73 ± 0.34	0.05 ± 0.01	0.03 ± 0.001	0.87 ± 0.18 a	0.19 ± 0.05	0.87 ± 0.23 a	0.45 ± 0.15	5.51 ± 0.77
	20	2.34 ± 0.3	122.96 ± 1.04	17.56 ± 0.15 b	5.20 ± 0.15 b	2.68 ± 0.38	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.001	0.45 ± 0.00 b	0.17 ± 0.06	0.56 ± 0.03 b	0.48 ± 0.15	5.62 ± 0.88
pediveliger	15	3.57 ± 0.7	189.93 ± 1.39	7.60 ± 0.05*	9.13 ± 2.22	3.56 ± 0.60	0.02 ± 0.005	0.02 ± 0.01	1.17 ± 0.62	0.31 ± 0.1	0.74 ± 0.39	0.79 ± 0.29	8.83 ± 1.60
	20	1.08 ± 0.4	190.24 ± 1.27	12.68 ± 0.08**	11.50 ± 2.41	4.42 ± 0.30	0.02 ± 0.004	0.02 ± 0.01	1.25 ± 0.57	0.32 ± 0.04	0.83 ± 0.37	0.90 ± 0.16	10.03 ± 0.76

(b)

stage	statistical values	size	growth	TFA		20:4n6		20:5n3		22:6n3		peroxydation index	profiles	
				NL	PL	NL	PL	NL	PL	NL	PL		NL	PL
veliger	df	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	pseudo-F	1.3326	1457.8	8.834	0.008701	4.8711	0.03877	21.258	0.38577	7.3989	0.062306	0.008701	16.108	3.3319
	p-perm ou p(MC)	0.2503	0.0001	0.028	0.9342	0.0648	0.8443	0.0034	0.5556	0.0336	0.818	0.9274	0.0006	0.0358
pediveliger	df	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	pseudo-F	0.026905	2580.5	0.51264	1.7846	0.001481	0.000009	0.041661	0.020677	0.0916769	0.43551	1.6237	14.016	2.2437
	p-perm ou p(MC)	0.8687	0.0001	0.5014	0.2313	0.9691	0.9979	0.8464	0.8878	0.7736	0.5382	0.2456	0.0006	0.1479



III.2. Sound x temperature interaction on veliger larvae

Veliger larvae performance varied according to temperature treatment without any interaction with sound treatment: mortality rates and daily growth rate (Table 8b) for 20°C veliger larvae were 5.8-fold and 16% higher than 15°C batches, respectively (Table 8a). On mortality or growth, no impact of sound exposure was detected (Table 8b).

FA profiles of the neutral and polar fractions varied according to temperature and sound without any interaction (Table 8b). Abundance of 20:5w3, 22:6w3, 16:0, 16:1w5 and 20:3w3 in the PL fraction, or abundance of 20:5w3, 18:1w9, 14:0 and 16:0 in the NL contributed to half of the differences (SIMPER analyses, Supplementary Material 9(a) and 9(b)). FA profiles varied according to pile driving but not drilling noise in the PL (Table 8b), with abundance of 22:6w3, 20:5w3, 16:1w5, 16:0 and 20:3w3 contributing to half of the difference (SIMPER analysis, Supplementary Material 9(c) and 9(d)). FA profiles in NL varied between drilling (D) and high level pile driving (P+) (Table 8b).

TFA concentration for NL and PL varied according to temperature (Table 8b). Larvae reared at 15°C contained 35% more NL and 14% more PL than 20°C larvae (Table 8a). TFA concentration in polar fraction varied also according to sound, without any interaction (Table 8b). Larvae exposed to pile driving concentrate 18% more TFA in their PL (Table 8a). TFA concentration in the neutral fraction did not vary according to sound (Table 8b).

EFA selective retention ratio of 20:5w3 and 22:6w3 varied according to temperature and sound exposure without any interaction (Table 8b). 20:5w3 and 22:6w3 retention ratios were 25 and 12% higher in 15°C than in 20°C larvae, and 18 and 26% higher in larvae exposed to pile driving compared to the control (Table 8a). 20:4w6 retention ratio did not vary according to temperature nor sound (Table 8b).

Peroxidation index varied according to rearing temperature and sound exposure without interaction between both factors (Table 8b). Peroxidation index was 16.5 % higher for larvae reared at 15°C and 23% higher for larvae exposed to pile driving (Table 8a).



(a)

temperature	factors sound	mortality (%)	growth ($\mu\text{m}/\text{day}$)	TFA (mg/g)		20:4n6 ratio	20:5n3 ratio	22:6n3 ratio	peroxydation index
				NL	PL				
15	C	0.64 ± 0.45 * 1.04 ± 0.94	6.2 ± 0.05 * 6.18 ± 0.09	8.58 ± 0.55 * 7.82 ± 0.42	3.60 ± 0.11 * 3.29 ± 0.09	0.91 ± 0.04 0.92 ± 0.03	0.24 ± 0.01 * 0.21 ± 0.00	1.38 ± 0.06 * 1.22 ± 0.04	8.74 ± 0.34 * 7.81 ± 0.20
	P	0.002 ± 0.86	6.3 ± 0.08	10.38 ± 0.98	3.88 ± 0.23	0.87 ± 0.02	0.26 ± 0.13	1.53 ± 0.13	9.59 ± 0.73
	P+	0.15 ± 0.86	6.09 ± 0.1	9.62 ± 1.35	3.82 ± 0.27	0.91 ± 0.18	0.26 ± 0.14	1.52 ± 0.14	9.55 ± 0.81
	D	1.38 ± 1.01	6.23 ± 0.10	6.95 ± 0.80	3.42 ± 0.12	0.93 ± 0.02	0.22 ± 0.06	1.26 ± 0.06	8.03 ± 0.37
20	C	3.73 ± 0.42 ** 3.76 ± 0.95	7.2 ± 0.06 ** 7.4 ± 0.11	6.36 ± 0.36 ** 6.21 ± 0.47	3.15 ± 0.12 ** 2.87 ± 0.08	0.80 ± 0.09 0.64 ± 0.01	0.18 ± 0.06 ** 0.16 ± 0.04	1.22 ± 0.06 ** 1.09 ± 0.04	7.50 ± 0.35 ** 6.71 ± 0.22
	P	3.68 ± 1.17	7.12 ± 0.12	5.93 ± 0.85	3.10 ± 0.13	0.71 ± 0.05	0.18 ± 0.07	1.22 ± 0.07	7.48 ± 0.39
	P+	3.31 ± 0.78	7.16 ± 0.12	7.14 ± 0.98	3.73 ± 0.09	0.88 ± 0.13	0.21 ± 0.06	1.52 ± 0.06	9.21 ± 0.31
	D	4.16 ± 0.54	7.13 ± 0.13	6.17 ± 0.69	2.88 ± 0.27	0.97 ± 0.34	0.16 ± 0.14	1.05 ± 0.14	6.60 ± 0.41
both	C	2.63 ± 0.76	6.76 ± 0.08	7.01 ± 0.42	3.08 ± 0.10 a	0.78 ± 0.05	0.19 ± 0.01 a	1.15 ± 0.03 a	7.26 ± 0.23 a
	P	3.08 ± 0.89	6.69 ± 0.07	7.84 ± 1.07	3.49 ± 0.19 bc	0.79 ± 0.04	0.22 ± 0.02 bc	1.38 ± 0.08 b	8.53 ± 0.52 bc
	P+	2.53 ± 0.73	6.66 ± 0.08	8.38 ± 0.90	3.77 ± 0.13 b	0.90 ± 0.1	0.23 ± 0.01 b	1.52 ± 0.07 b	9.38 ± 0.38 b
	D	2.39 ± 0.69	6.70 ± 0.09	6.56 ± 0.51	3.15 ± 0.17 ac	0.95 ± 0.16	0.19 ± 0.01 ac	1.15 ± 0.08 a	7.31 ± 0.46

(b)

factor(s)	statistical values	mortality	growth	TFA		20:4n6 ratio	20:5n3 ratio	22:6n3 ratio	peroxydation index	profiles	
				NL	PL					PL	NL
temperature	df	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	pseudo-F	23.116	168.54	12.526	13.328	1.1111	41.856	5.8648	11.235	40.126	60.583
	p-perm	0.0001	0.0001	0.001	0.0007	0.3321	0.0001	0.0231	0.0021	0.0001	0.0001
sound	df	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	pseudo-F	0.57715	0.79139	1.5223	6.227	0.61879	6.5287	7.0318	7.1123	3.039	2.03
	p-perm	0.6298	0.507	0.2221	0.0032	0.6703	0.0026	0.0026	0.0011	0.0067	0.037
sound x temperature	df	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	pseudo-F	0.11746	1.2057	1.201	1.4919	0.4674	0.86404	0.87569	1.2021	0.39708	1.451
	p-perm	0.9487	0.3003	0.3195	0.233	0.7654	0.4815	0.4755	0.3254	0.925	0.1516

(c)

levels of sound factor	TFA	20:5n3	22:6n3	peroxydation	profiles	
	PL	ratio	ratio	index	PL	NL
C, D	0.7701	0.8195	0.9965	0.8292	0.4734	0.0734
C, P	0.0065	0.0088	0.0058	0.0034	0.0196	0.4511
C, P+	0.001	0.0001	0.0008	0.0006	0.0021	0.1578
D, P	0.1224	0.0823	0.0544	0.0666	0.0558	0.0985
D, P+	0.013	0.0087	0.0061	0.0071	0.0221	0.0467
P, P+	0.1335	0.1978	0.2163	0.1361	0.3849	0.4208

Table 8: Sound x temperature interaction on veliger larvae. (a) Mean mortality rate, growth rate, peroxidation index, TFA concentrations in Neutral and Polar fractions, and 20:4w6, 20:5w3 and 22:6w3 ratios ± Standard Deviation, of *Venus verrucosa* veliger larvae reared at 15 or 20°C exposed to pile driving of drilling sound. Values annotated with different letters or different number of stars differed significantly at p-perm < 0.05. (b) Results of the statistical analyzes performed on Table 2a data. The degrees of freedom (df), the ratio of between cluster variance to within cluster variance (pseudo-F) and the probability value (p-perm) are indicated for each PERMANOVA, testing the impact of temperature, then temperature interaction with pile driving or drilling on veliger's parameters. Statistical values for PERMANOVA on FA profiles of Neutral and Polar fractions are also indicated. Significant p-perm are in bold. (c) Results of the pair-wise tests performed on Table 2a data for significant effect of sound detected in Table 2b.



III.3. Sound x temperature interaction on pediveliger larvae

Mortality rates of pediveliger larvae varied according to rearing temperature and sound treatment without any interaction (Table 9b). The mortality rate was 9-fold higher when larvae were reared at 15°C than at 20°C (Table 9a). Drilling and pile driving exposure reduced the mortality of pediveligers larvae by 33 and 29% respectively (Table 9a). Metamorphosis rates varied according to temperature treatment without any sound effect or interaction (Table 9b). Metamorphosis rate was 33% higher in 15°C compared to 20°C larvae (Table 9a). Settlement rates vary according to temperature (Table 9b): when reared at 20°C, larvae settled 30% slower than when reared at 15°C (Table 9a). Interaction between sound and temperature was almost significant (Table 9b) and settlement was 29% slower when 20°C larvae were exposed to pile driving sound compared to control condition (Table 9a).

FA profiles of pediveligers larvae varied according to temperature in both polar and neutral fraction without any interaction nor effect of sound (Table 9b). Abundance of 22:6w3, 18:0, 16:0, 20:5w3 and 20:3w3 in the PL fraction or 20:5w3, 16:1w5, 22:6w3 and 18:1w9 in NL fraction contributed to half of the differences (SIMPER analyses, Supplementary Material 10(a) and 10(b)).

(c)						(d)	
temperature	levels of sound factor	settlement	TFA	20:5n3	22:6n3	levels of sound factor	mortality
			NL	ratio	ratio		
15	C, D	0.5523	0.5503	0.6116	0.4819	C, D	0.0411
	C, P	0.5936	0.212	0.1764	0.0987	C, P	0.0033
	C, P+	0.4221	0.2057	0.3974	0.2526	C, P+	0.0355
	D, P	0.9985	0.5471	0.4734	0.4723	D, P	0.204
	D, P+	0.94	0.5241	0.7957	0.7873	D, P+	0.6296
	P, P+	0.9498	0.9823	0.3923	0.4127	P, P+	0.5287
	20	C, D	0.2878	0.0304	0.0264	0.0337	
C, P		0.0168	0.0004	0.0007	0.0026		
C, P+		0.035	0.1688	0.1696	0.2814		
D, P		0.4085	0.4813	0.2821	0.3237		
D, P+		0.3556	0.6487	0.6539	0.6013		
P, P+		0.9944	0.4254	0.2653	0.2827		



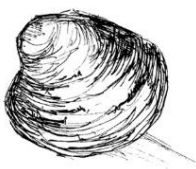
Table 9: Sound x temperature interaction on pediveliger larvae. (a) Mean mortality, metamorphosis and settlement rate, peroxidation index, TFA concentrations in Neutral and Polar fractions, and 20:4w6, 20:5w3, and 22:6w3 ratios ± Standard Deviation, of *Venus verrucosa* pediveliger larvae reared at 15 or 20°C exposed to pile driving of drilling sound. Values annotated with different letter or different number or different number of stars differed significantly at p-perm < 0.05. (b) Results of the statistical analyzes performed on Table 2 data. The degrees of freedom (df), the ratio of between cluster variance to within cluster variance (pseudo-F) and the probability value (p-perm) are indicated for each PERMANOVA, testing the impact of temperature, then temperature interaction with pile driving or drilling on pediveliger's parameters. Statistical values for PERMANOVA on FA profiles of Neutral and Polar fraction are also indicated. Significant p-perm are in bold. (c) Results of the pair-wise tests performed on Table 3a data for significant interaction between sound and temperature detected in Table 3b. (d) Results of the pair-wise test performed on Table 3a data for significant effect of sound detected in Table 3b.

(a)

temperature	sound	mortality (%)	metamorphosis (%)	settlement (%)	TFA (mg/g)		20:4n6 ratio	20:5n3 ratio	22:6n3 ratio	peroxydation index
					NL	PL				
15		16.59 ± 0.98 *	21.50 ± 1.57 *	85.12 ± 1.32 *	7.48 ± 0.62 *	2.67 ± 0.23 *	1.78 ± 0.25 *	0.18 ± 0.02 *	1.26 ± 0.12 *	5.91 ± 0.57 *
	C	20.82 ± 1.66	23.90 ± 1.36	83.20 ± 2.94	6.05 ± 1.25	2.16 ± 0.47	1.89 ± 0.24	0.15 ± 0.01	0.98 ± 0.09*	4.73 ± 1.11
	P	14.13 ± 1.69	16.36 ± 2.73	85.69 ± 3.46	8.44 ± 1.00	3.30 ± 0.33	2.21 ± 0.10	0.22 ± 0.02	1.56 ± 0.15*	7.31 ± 0.56
	P+	14.81 ± 2.14	20.42 ± 3.78	85.92 ± 1.43	8.47 ± 0.87	2.76 ± 0.24	1.56 ± 0.11	0.19 ± 0.04	1.37 ± 0.35	6.39 ± 0.76
	D	16.59 ± 1.47	25.33 ± 3.52	85.68 ± 2.86	7.61 ± 1.40	2.70 ± 0.56	1.52 ± 0.16	0.18 ± 0.08	1.26 ± 0.53	5.85 ± 1.37
20		1.79 ± 0.40 **	16.11 ± 1.01 **	59.91 ± 3.53 **	19.21 ± 2.79 **	5.76 ± 0.62 **	1.28 ± 0.03 **	0.47 ± 0.03 **	2.94 ± 0.19 **	13.96 ± 1.57 **
	C	2.73 ± 0.69	17.38 ± 1.84	73.63 ± 3.85 a	30.30 ± 2.75 a	8.28 ± 0.70	1.60 ± 0.21	0.70 ± 0.01 a	4.26 ± 0.09 a	20.34 ± 1.98
	P	0.84 ± 0.55	16.04 ± 2.62	52.04 ± 6.36 b	13.24 ± 0.96 b	3.82 ± 0.19	1.09 ± 0.25	0.31 ± 0.11 b	1.96 ± 0.80 b	9.30 ± 0.47
	P+	2 ± 1.02	14.80 ± 1.12	51.98 ± 4.08 b	19.56 ± 7.46	5.92 ± 1.64	1.36 ± 0.14	0.48 ± 0.07	3.05 ± 0.40	14.35 ± 4.21
	D	1.59 ± 0.82	16.22 ± 2.57	61.99 ± 9.68 a	13.73 ± 5.32 b	5.01 ± 1.01	1.09 ± 0.31	0.40 ± 0.10 b	2.48 ± 0.64 b	11.84 ± 2.22
both	C	11.77 ± 2.86 a	20.64 ± 1.47	78.41 ± 2.72	15.75 ± 4.15	4.61 ± 1.07	1.77 ± 0.30	0.37 ± 0.10	2.29 ± 0.61	8.18 ± 2.59
	P	7.49 ± 2.17 b	16.20 ± 1.81	68.87 ± 6.14	10.84 ± 1.11	3.56 ± 0.20	1.65 ± 0.27	0.26 ± 0.02	1.76 ± 0.10	1.34 ± 0.47
	P+	8.40 ± 2.24 b	17.61 ± 2.06	68.95 ± 5.52	14.01 ± 4.06	4.34 ± 0.97	1.46 ± 0.13	0.33 ± 0.08	2.21 ± 0.50	6.58 ± 2.33
	D	9.09 ± 2.40 b	20.77 ± 2.49	73.84 ± 5.99	10.06 ± 2.33	3.63 ± 0.61	1.35 ± 0.11	0.27 ± 0.06	1.75 ± 0.34	4.49 ± 1.42

(b)

factor(s)	statistical values	mortality	metamorphosis	settlement	TFA		20:4n6 ratio	20:5n3 ratio	22:6n3 ratio	peroxydation index	profiles	
					NL	PL					PL	NL
temperature	df	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	pseudo-F	235.9	8.5974	51.737	15.489	13.624	7.0122	46.934	32.422	13.744	20.945	69.937
	p-perm	0.0001	0.006	0.0001	0.0001	0.0001	0.0107	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
sound	df	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	pseudo-F	3.6674	1.5244	1.6963	1.7286	1.1484	1.1207	3.0304	1.8547	1.2265	0.73534	0.7184
	p-perm	0.0205	0.2256	0.1818	0.1174	0.3442	0.3541	0.0453	0.1593	0.2962	0.7002	0.7391
sound x temperature	df	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	pseudo-F	1.5339	1.0074	2.6752	2.3223	1.8367	1.1023	5.5294	9.957	1.5613	0.84986	0.6978
	p-perm	0.2219	0.3919	0.0618	0.0467	0.1019	0.3673	0.0056	0.0106	0.1763	0.5814	0.7531



TFA concentration varied according to a significant interaction between sound exposure and rearing temperature in NL (Table 9b). Larvae reared at 20°C concentrated 2.6-fold more TFA in NL than those reared at 15°C (Table 9a), and when exposed to low sound level pile driving or drilling, their TFA concentration in NL was reduced by 55% (Table 9a). TFA concentration varied according to temperature for PL without any effect of sound exposure nor interaction (Table 9b). Larvae reared at 20°C concentrated 2.2-fold more TFA than those reared at 15°C (Table 9a).

EFA selective retention ratio of 20:4w6, 20:5w3 and 22:6w3 varied according to temperature (Table 9b). They were respectively 1.4-fold lower and 2.6 and 2.3-fold higher for larvae reared at 20°C (Table 9a). Selective retention ratio of 20:4w6 did not vary according to sound nor any interaction (Table 9b). Selective retention ratio of 20:5w3 also varied according to sound and interactions between factors (Table 9b). Larvae reared at 20°C had a 2.3 or 1.75-fold reduced 20:5w3 ratio when exposed to low level pile driving or drilling compared to the control condition. Selective retention ratio of 22:6w3 also varied according to interactions between temperature and sound exposure (Table 9b). Retention ratio of 22:6w3 is 2.2-fold reduced by low level pile driving and 1.7-fold increased by drilling only for 20°C larvae (Table 9a).

Peroxidation index varied according to rearing temperature without effect of sound nor interaction (Table 9b). It was 3.36-fold higher for larvae reared at 20°C than at 15°C.

IV. Discussion

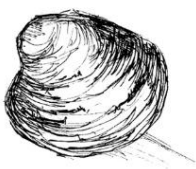
As expected, the present study showed that the physiological state of veliger and pediveliger stages of *Venus verrucosa* was highly impacted by the temperature experienced by larvae during their development. We show complex interactions between rearing temperature and anthropogenic sound exposure associated with the installation of offshore wind turbines that clearly impact larvae. The sensitivity of Warty Venus to noise appears to be highly dependent on both developmental stage and physiological state.



IV.1. Impact of temperature rearing on larval physiology

The physiological state of bivalve larvae is based on their lipid content (Pernet et al., 2005) depending on biotic and abiotic factors of their environment, as the diet quality (Delaunay et al., 1993; Pernet and Tremblay, 2004) or the temperature experienced (Pernet et al., 2007a). Lipids have a central role in supporting larval development (Glencross, 2009). Consistent with the existing literature, we produced two physiologically different batches with distinct performances and FA content and profiles, mainly for neutral fractions, by rearing larvae at two different temperatures. As expected growth of 20°C larvae was faster (Bayne, 1965; Pechenik, 1990) so we started the veliger and pediveliger experiments with 15 and 20°C batches at different time post fertilization depending on size criteria. This criterion allows starting the experiment on larvae with a similar stage of development to be comparable (Forêt et al., 2020). Lipids are essential for the development of bivalves, specifically polar lipids which are mainly phospholipids incorporated in membranes and maintain cell membrane integrity in invertebrate's species (Gallager et al., 1986). Because all FAs have different properties, the FA composition of the polar lipid fraction influences the membrane fluidity and the peroxidation index, which is a proxy of the membrane susceptibility to peroxidation. As an example, the membrane is prone to peroxidative damage as higher proportions of polyunsaturated FA are found in the polar lipid fraction (Hulbert et al., 2007). Conversely, a membrane with higher proportions of saturated and monounsaturated fatty acid will more resist to lipid peroxidation, which produce highly reactive molecules that can also cause damage to membrane DNA and proteins. Through the modulation of the rearing temperature from 15°C to 20°C, we changed the fatty acid composition of the membrane of larvae, increasing lipid peroxidation until 2.4 times and subsequent sensitivity to membrane lipids to potential oxidative damage.

Lipids content and composition of the neutral fraction traduce the larval energetic storage (Gallager et al., 1986). Veligers reared at 20°C displayed lower energetic reserves (TFA in NL) and concentrations of EFA in the neutral fraction, as well as a higher mortality rate at the end of the experiment. At the following pediveliger stage, 20°C larvae accumulated more energetic reserves than at 15°C although no significant differences could be detected when starting pediveliger experiment. At the end of the experiment,



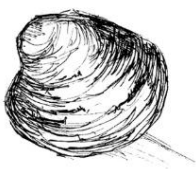
pediveliger reared at 20°C displayed 2.6-fold more energetic lipids and 2.2-fold more membrane lipids than those reared at 15°C, and that was coupled with a highly reduced mortality rate. The positive correlation between raised temperature and increase in lipid content at pediveligers highly depend on the thermal optimum, which is specie-specific (Pörtner et al., 2017; Rayssac et al., 2010a). Fatty acid content is highly correlated with larval performances (Delaunay et al., 1992; Pernet and Tremblay, 2004) with positive relation between energy reserves and survival rates (Rayssac et al., 2010a). Previous work on *V. verrucosa* young stages showed that 60 dpf juveniles reared at 20°C accumulated 2 to 3 fewer lipids as well as less TAG content, a main component of the energetic storage, than those reared at 15°C (Forêt et al. 2020). Such thermal influence diverges from our data acquired on pediveligers but are in agreement with the veliger data affording for ontogenic variations (Pernet et al., 2007a). High variations among larval stages have been reported in the literature : Marty et al., (1992) described a 10-fold higher TFA content in Great scallop pediveligers than in veliger. Previous studies suggest that selective pressure of temperature is highly ontogenic (Pörtner et al., 2017) and predominant during early ontogeny (Rayssac et al., 2010a), which is in accordance with the inverted effect of rearing temperature observed on veliger and pediveliger larvae. Thus, this species seem to accumulate less energetic reserves and structural lipids at pre (our results) and post-metamorphic (Forêt et al. 2020) stages when reared at high temperature, whereas peri-metamorphic stage (our results) store more energetic and structural lipids. As increasing temperature usually raises up the metabolism, this lipid accumulation at pediveliger stage could be related to higher metabolic and energetic needs during metamorphosis process. The costs associated with acclimatizing to thermal stress during metamorphosis seems to be offset by higher fatty acid accumulation (Zippay and Helmuth, 2012).

The strong increase in lipid concentration and the selective storage of 20:4w6 and 22:6w3 dietary lipids at pediveliger compared to the veliger stage indicates a transition from endogenous to exogenous nutrition (Delaunay et al., 1992; Pernet et al., 2005). At early veliger stage, energetic content of larvae is mostly based on lipid reserve transferred from the mother to the egg (Yamamoto et al., 1999). We hypothesize that at young veliger stage, higher temperature causes a high metabolic and energetic demand that larvae cannot compensate through feeding, inducing higher mortality rates. As larvae ages, feeding capacities and activity rise up to compensate for higher metabolic and energetic needs of metamorphosis process. Larvae can selectively accumulate FA (Pernet and



Tremblay, 2004) and the ratio of EFA in the larva to the same FA originating from diet indicates whether larvae selectively incorporate a specific EFA from microalgae (Cabrol et al., 2015). The ratio higher than 1 means that the proportion of essential fatty acid in the polar lipid is higher than in the diet, suggesting selective incorporation into membrane phospholipids. Higher selective retention highlights potential deficiencies in diet to meet the physiological needs in EFA for larvae. Our results at pediveliger stage showed DHA retention ratios particularly higher at 20°C rearing temperature, suggesting that food quantity or quality seems too low to satisfy the metabolic needs at 20°C and that larvae could compensate by increasing feeding. Although there is no comparative study on filtration rate on *V. verrucosa*, Bayne (1965) showed an increase in the clearance rate of *M. edulis* with increasing temperature. Our data highlight that higher lipid content and EFA retention ratio are associated with lower metamorphosis rate. Physiological status of competent larvae determine the active substrate prospection and selectivity during settlement (Pernet et al., 2005). Pediveligers accumulating more lipids would be more selective, delaying potentially their metamorphosis if settle habitat was no appropriate (Tremblay et al., 2007). During the competence phase, the larva consumes its energetic reserves until a threshold below which larvae can no longer delay their metamorphosis and they settle anywhere (Pechenik, 1990). We hypothesis that higher temperature increases the larvae selectivity capacity by their more important energetic lipid accumulation.

To prevent mortality in small experimental tanks with high biomass larvae (Holbach et al., 2015), antibiotics were used to avoid any bacterial contamination. However, antibiotics also prevented the development of a biofilm, which constitutes a positive settlement cue for bivalves larvae (Leyton and Riquelme, 2008) inducing a negative effect on their settlement (Pernet et al., 2006). Furthermore, in the absence of air injection and water agitation in experimental tanks to avoid sound perturbation for anthropogenic noise emission, no positive settlement cue was related to hydrodynamics/turbulence (Tremblay et al., 2020). Finally, with the absence of artificial collectors in the tanks, larvae could only settle on the smooth walls of the cylinders, which is less suitable than filamentous or rough surfaces (Harvey et al., 1993; Le Tourneux and Bourget, 1988). We suggest that these experimental conditions to maintain better soundscape conditions were not optimal for larval settlement, stimulating metamorphosis delay and potential desperate conditions. However, such conditions are often

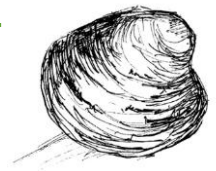


encountered in the natural environment (Pechenik, 1990). We conclude that higher metabolism and feeding at 20°C delayed the metamorphosis and stimulating the desperate behavior of pediveliger larvae.

IV.2. Sound reduces larval settlement, mortality and thermic compensatory mechanisms

The present study on an endobenthic bivalve demonstrated the ontogenic effects of anthropogenic sounds on larvae, as already observed in an epibenthic species, *P. maximus* (Chapitre 2). In the present experiment, pile driving modify slightly the energetic state of the veliger larvae, without inducing any effect on their mortality or growth. Pile driving modify FA profile of the veliger, but only in the polar fraction and particularly in EPA and DHA. Pile driving increases FA content in the polar fraction and the retention ratio of EFA, gradually with sound levels increase, suggesting that larvae increase their fatty acids membrane accumulation, particularly EFA. It could be related to increasing growth of settlers or indicator as stress inducing metabolic level increase (Spiga et al., 2016), but further experiments are needed.

Our results highlight an ontogenic interaction between the physiological consequences of rearing temperature and the acoustic sensitivity of larvae, but only at pediveliger stage. Both sounds reduce FA content in neutral fraction of larvae reared at 20°C but not at 15°C. Also, 20°C larvae decrease their EFA retention ratio in response to sound, suggesting a potential feeding or assimilation decrease. Our observations concur with similar studies showing that temperature amplifies the effect of another stressor (Cherkasov et al., 2007), because physiological stress induced by one factor reduce the resistance an other (Zippay and Helmuth, 2012). As an example, Lannig et al. (2006) concluded that cadmium pollution reduce thermal tolerance of the oyster *Crassostrea virginica*. The present results also indicate that sound reduce the compensatory mechanisms established to balance the temperature increase. We suggest that sound, as an environmental pollution, requires elevated stress protection and impinges on thermal stress defenses but this hypothesis requires further investigation.



If fatty acid retention in response to increased temperature enhance larval selectivity and delayed metamorphosis, the reduction of EFA retention by sound was not correlated to an acceleration of the metamorphosis. As described by Delaunay et al., (1992), there is not necessarily a direct relationship between lipids and larval growth. Despite the lower energetic content, larvae do not seem to adopt the desperate larvae behavior. Inversely, the settlement process was slow down by pile driving at 20°C, as indicated by the slightly lower proportion of larvae crawling on the cylinders surface. We then hypothesis that anthropogenic noise is a negative settlement cue for *V. verrucosa* larvae. Our results match with studies on *Balanus amphitrite* demonstrating a delay of metamorphosis in response to low frequency sounds (Branscomb and Rittschof, 1984). But it also contrasts with others acoustic impact studies on bivalve species showing an increased settlement in response to low frequency anthropogenic sound for mytilids *M. edulis* (Jolivet et al., 2016) and *P. canaliculus* (Wilkens et al., 2012). It demonstrates that the response to sound is highly specie-specific. Conversely with 20°C larvae, FA content of 15°C reared larvae is not reduced by sound as it is already low. Effect of sound diverge in 15 and 20°C rearing condition, showing up that response to sound is highly dependent on larval physiological state. Our study agree with previous ones showing strong interactions between the physiological state of larvae and its response to an environmental stressor (Freuchet et al., 2015; Lannig et al., 2006; Torres et al., 2021).



Acknowledgements

We deeply thank all the Tinduff hatchery team for their technical support, their useful advices and their remarkable skill in larval production. We thank Guillaume Bridier for conducting FA identification.

Funding

The work reported in this paper was a part of the PhD of Mathilde Gigot, funded by the CNRS. Additional financial support was provided by the IMPAIC project (*'IMPacts Acoustiques sur les Invertébrés de la baie de Saint-Brieuc'*), supported by Ailes Marines. This study is a contribution to the BeBEST2 International Research Project (CNRS INEE/LEMAR and UQAR/ISMER).

Declaration of competing interest

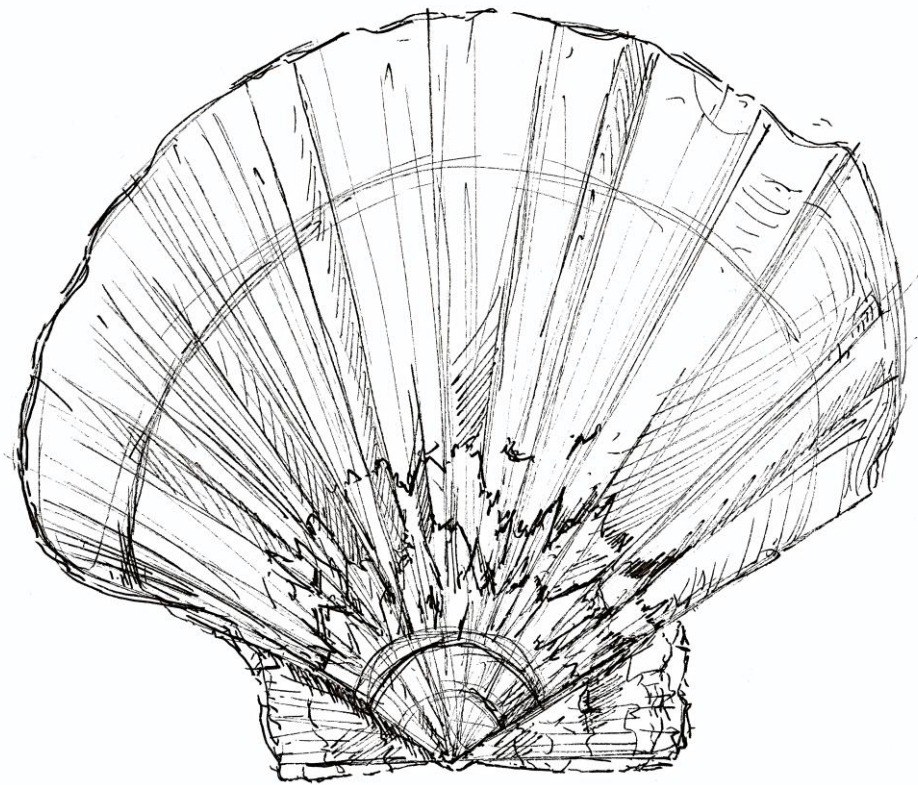
The authors declare that they have no financial interests or personal relationship that could have influence this work.

Ethics Approval

Ethics approval was not required for this study according to legislation about invertebrates.

Data statement

Original data used in the current study are available from the corresponding author on reasonable request.



© Liz Hascoët / Fovearts

Discussion générale



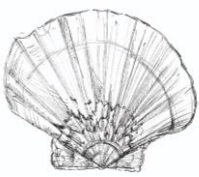
L'objectif principal de ces travaux de thèse était de déterminer les potentiels impacts des sons anthropiques sur les stades larvaires d'invertébrés marins. Dans le contexte actuel de développement des Énergies Marines Renouvelables, nous avons identifié les bruits de battage de pieu et de forage liés à l'installation des parcs éoliens offshore comme facteurs d'exposition. Nos modèles d'étude que sont la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* et la praire *Venus verrucosa* ont été choisis sur la base de leur intérêt commercial et de leur présence dans la zone côtière concernée par l'implantation d'éoliennes. Les expériences présentées dans ce manuscrit ont été mises en place afin de :

- Concevoir un dispositif expérimental permettant l'émission de sons la plus fidèle possible et l'élevage de larves ;
- Quantifier l'impact des sons sur les larves de bivalves ;
- Tester dans quelle mesure l'état physiologique des individus modifie la réponse au son ;
- Définir un potentiel stade critique de la réponse acoustique dans le développement larvaire ;
- Définir une aire d'impact acoustique des chantiers offshore.

Cette discussion générale propose dans un premier temps de montrer comment ces objectifs ont été approchés. J'y résumerai et confronterai les résultats obtenus dans les quatre chapitres de ce manuscrit afin de discuter des conséquences écologiques des résultats observés, tant à l'échelle de l'individu que de la population.

Dans un second temps, cette discussion sera également l'occasion de questionner les enjeux de ces résultats pour les futurs chantiers offshore et de présenter les méthodes d'atténuation sonore déjà existantes.

Dans une partie finale, je proposerai de nouveaux outils méthodologiques permettant de répondre aux questionnements soulevés par mes résultats.



I. Synthèse des résultats de la thèse

I.1. Le *Larvosonic*, un défi technique à relever

La première étape du projet a été de concevoir un dispositif d'émissions sonores compatible avec les contraintes de laboratoire. La limitation la plus fréquemment soulevée dans le domaine de la bioacoustique est la taille réduite des cuves qui entraîne un phénomène de réverbération (Duncan et al., 2016). L'utilisation de diffuseurs et de pièges à basses fréquences sur les parois du *Larvosonic* a permis largement de réduire ce phénomène d'une manière jamais atteinte dans la littérature. Une autre contrainte de notre dispositif était qu'il puisse émettre simultanément différents sons, à différentes intensités et à divers rythmes d'exposition. Un amplificateur à huit canaux couplé à un processeur matriciel a permis de relever ce défi et de contrôler à volonté les émissions en bassin.

Bien plus qu'un dispositif acoustique, le *Larvosonic* avait pour ambition de permettre une mise en exposition longue des larves. Les taux de survie et de croissance furent satisfaisants et le caractère amovible des cylindres a permis une facilité de maintenance de l'élevage. Le volume intermédiaire (5L) des unités de réplication a permis d'exposer une quantité de matériel biologique suffisante pour mener à bien les études lipidiques prévues sans dépasser la concentration de larves limitant la compétition. **Une caractérisation approfondie de l'acoustique de la cuve et trois expériences fructueuses nous permettent d'affirmer que le *Larvosonic* est un outil expérimental performant pour les études d'impact acoustique sur les larves d'invertébrés.**

I.2. Impacts des sons anthropiques sur les larves de bivalves

Nos expériences nous ont permis de mettre en lumière les effets des sons de battage et de forage sur différents paramètres des larves de coquille Saint-Jacques et de praire. Pour plus de lisibilité, les résultats des expositions directes sont résumés dans le tableau suivant (Table 10).



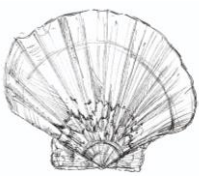
Table 10 : Tableau récapitulatif des résultats significatifs concernant les effets directs de l'exposition au son des larves. Les « + » symbolisent une augmentation tandis que les « - » représentent une diminution. Les cases grisées signifient que le paramètre n'a pas été étudié dans l'expérience.

			survie	croissance	métamorphos	prospection	filtration	acides PL	gras NL	EFA rétention
Coquille Saint Jacques	post-larve	battage								
		forage		+				-		
Praire	véligère	battage		+	+			+		+
		forage	-		-		-	-		
Praire	véligère	battage						+		+
		forage								
	pédivéligère	battage	+			-			-	-
		forage	+			-			-	-

Le **Chapitre 1** présente les premiers résultats de l'exposition de post-larves de coquilles Saint-Jacques aux sons anthropiques.

Nous y démontrons que le bruit n'a aucun impact sur la survie des post-larves. Tandis que le battage de pieu n'a d'effet ni sur leur croissance ni sur leur teneur en lipides, le forage augmente leur taux de croissance et réduit la concentration en acides gras des post-larves. **Les deux sons anthropiques ont donc des effets contrastés.**

On retrouve cette opposition entre les effets du battage et du forage dans le **Chapitre 2**. L'exposition au bruit de battage ne module pas la survie des larves pédivéligères de coquilles Saint-Jacques alors que le forage en augmente la mortalité. De même, le battage accélère la métamorphose, alors que le forage la retarde. Enfin, le battage ne modifie pas le taux de filtration des larves tandis que le forage le réduit. Une hypothèse qui pourrait expliquer cette dichotomie serait que les larves réagissent différemment aux sons continus et impulsifs ou aux différences dans la composition fréquentielle des sons.



Dans le **Chapitre 3**, pour la première fois, sont mis en évidence les effets maternels du son sur la coquille Saint-Jacques. Nous y démontrons que le battage de pieu n'induit pas de mortalité ni de modification du comportement alimentaire chez la coquille Saint-Jacques adulte, du moins aux niveaux sonores testés. L'exposition au son réduit la gamétogénèse mais les œufs pondus sont de meilleure qualité (moins d'œufs anormaux et meilleur taux d'éclosion). Nous avançons l'hypothèse que la quantité de réserves énergétiques dans ces œufs serait plus importante (Devauchelle and Mingant, 1991). Les larves résultantes possèdent de meilleures performances (croissance, métamorphose), du moins aux stades pré-métamorphiques. **Nos observations pourraient correspondre à une stratégie maternelle qui prioriserait la qualité plus que la quantité des œufs dans un environnement stressant** (Parker et al., 2012). L'avantage de l'exposition maternelle disparaît après la métamorphose, qui est un événement tellement disruptif dans le développement (Podolsky, 2006) que le stade de post-larve est indépendant des effets maternels.

L'exposition des parents modifie également la sensibilité au son de la descendance, sans clairement contribuer à une réponse mieux ou moins bien adaptée. **Il semblerait que l'expérience parentale du son ne confère un avantage aux larves que lorsqu'elles sont soumises à une exposition sonore.** Ceci s'explique volontiers par le fait que l'acquisition d'une résistance est un avantage en présence du stress mais un coût évolutif en absence de ce stress (Levinton et al., 2003). En effet, l'énergie investie dans les mécanismes de résistance ne l'est plus pour les fonctions basales de l'organisme.

Les expériences du **Chapitre 4**, menées sur des larves de praire, ont permis de montrer que **les réponses aux bruits anthropiques sont spécifiques à chaque espèce.** En effet, si les effets du battage et du forage divergent chez la coquille Saint-Jacques, ils convergent chez la praire au stade pédivéligère. A ce stade, les deux sons réduisent la mortalité et la prospection sans modifier la dynamique de métamorphose. De même, ils diminuent tous deux la rétention des acides gras essentiels quand le métabolisme est haut (20°C).

Chez la praire tout comme chez la coquille Saint-Jacques, les effets sont ontogéniques. Le forage n'a en effet aucun impact sur les larves véligères tandis que le battage augmente la rétention des acides gras essentiels dans les membranes lipidiques.



Nos expériences montrent des effets divers sur le processus de métamorphose, un moment charnière du développement qui marque le début de la vie benthique et dont le bon déroulement détermine la suite du cycle de vie. Le processus de fixation englobe des comportements de prospection influencés par de nombreux facteurs environnementaux qui interviennent dans la sélection de l'habitat benthique. Si elle ne rencontre pas les conditions optimales, qui sont hautement variables selon l'espèce, une larve est capable de prolonger la durée de sa phase larvaire (Pechenik, 1990). Ce délai de métamorphose est un pari risqué car elle s'expose à d'avantage de prédation lors du retour dans la colonne d'eau (Andre et al., 1993). Durant cette phase de retard, la larve perd peu à peu sa capacité à s'alimenter car son velum dégénère en prévision de la métamorphose (Bayne, 1965). A mesure qu'elle prospecte, ses réserves énergétiques s'amenuisent (Gebauer et al., 2003) jusqu'au point où elle n'a plus le loisir d'être sélective (Bayne, 1965). Elle doit alors se fixer, même sur un substrat défavorable, avant l'épuisement de ses réserves pour préserver ses chances de survie à court terme : c'est la théorie de la « *larve désespérée* » (Knight-Jones, 1951; Toonen and Pawlik, 1994) (Figure 37).

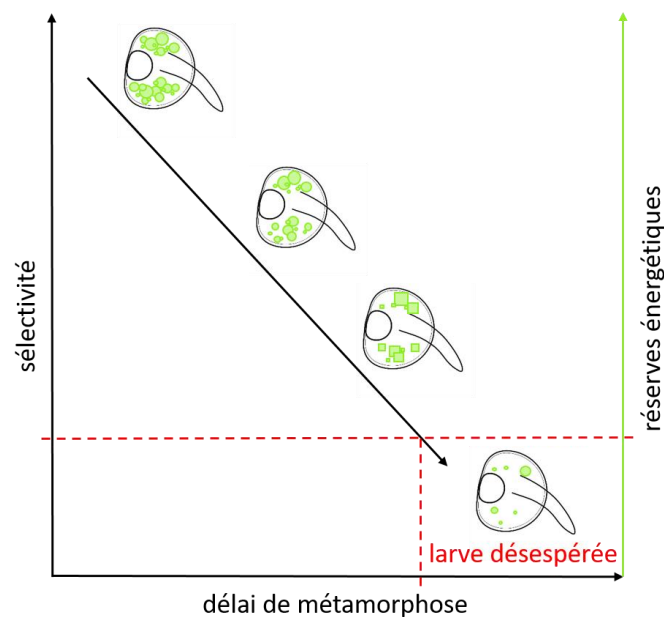
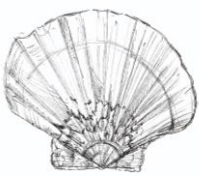


Figure 37 : Représentation schématique de la théorie de la « larve désespérée ». Au fur et à mesure que la larve pédivélégère repousse sa métamorphose à la recherche d'un substrat optimal, ses réserves énergétiques décroissent. Quand elles sont au minimum, la larve n'a d'autre choix que de se fixer, même sur un substrat défavorable.



Dans le **Chapitre 2**, l'inhibition de la métamorphose par le forage va de pair avec une diminution des réserves énergétiques, ce qui va dans le sens d'un prolongement de la phase pélagique. A l'inverse, le battage accélère la métamorphose de sorte que les larves se fixent avec des réserves énergétiques qui n'ont pas encore diminué. **Les bruits anthropiques modulent donc la dynamique de métamorphose.** Certaines études suggèrent que le paysage acoustique marin pourrait apporter des informations sur l'environnement et influencer le choix de la larve (Eggleston et al., 2016). Les larves pourraient reconnaître des signatures d'environnements propices à la poursuite de leur cycle de vie.

L'élevage en bassin ne comporte pas tous les signaux qui agissent positivement sur la fixation et il est possible que les conditions expérimentales ne soient pas optimales au bon déroulement de la métamorphose (voir section III.1 de cette discussion). Si l'ajout de son suffit à faire croire à la larve qu'elle est dans un milieu optimal pour se métamorphoser, les sons anthropiques pourraient mener à des erreurs dans le choix du lieu de fixation, avec des conséquences graves sur l'avenir de la larve. En effet, fixée dans un environnement non optimal, une larve de coquille Saint-Jacques peut par exemple ne pas rencontrer les conditions trophiques nécessaires à son alimentation ou ne pas disposer du sédiment optimal pour son enfouissement au stade adulte. A l'inverse, si un son est interprété comme l'indice d'un environnement mal adapté, alors la larve pourrait repousser sa métamorphose, la conduisant dans un état 'désespéré' à se fixer au hasard. **De plus, si la sensibilité des larves est modulée par l'expérience des adultes comme observé dans le Chapitre 3, le processus de sélectivité de la fixation pourrait s'en trouver modifié.**

Dans le **Chapitre 3**, l'exposition des adultes semble nuancer la qualité énergétique des larves. L'accumulation des ressources lipidiques augmente leur sélectivité et pourrait leur permettre de s'éloigner de la zone d'émission sonore pour se fixer (Marshall, 2008). **Ainsi le son expérimenté par les parents pourrait également modifier la dynamique de fixation de la descendance.**



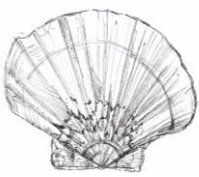
I.3. Impact de l'état physiologique sur la réponse au son

L'état physiologique des larves d'invertébrés marins repose largement sur leur contenu lipidique (Pernet et al., 2005). Ainsi le métabolisme énergétique module de nombreux paramètres de la vie d'une larve, que ce soit sa survie, son comportement ou sa réponse à des facteurs de stress (Sokolova, 2021). L'état physiologique, décrit par le contenu lipidique, fluctue principalement en réponse aux deux facteurs que sont l'alimentation (Delaunay et al., 1992; Pernet and Tremblay, 2004) et la température (Pernet et al., 2007b). Nous avons donc utilisé l'un puis l'autre de ces facteurs pour modifier l'état physiologique de nos larves.

Dans le **Chapitre 1**, la modification du régime alimentaire pendant quatre jours n'a pas suffi à induire une modification significative du profil énergétique des post-larves mais a augmenté leur taux de croissance en interaction avec le battage. Dans le **Chapitre 2**, nous avons observé que la composition de la ration alimentaire a aussi modulé le taux de croissance des pédivéligères en interaction avec les deux types de son mais toujours sans effet sur leur contenu lipidique. Le temps d'exposition de quatre jours semble ainsi trop court pour induire un changement d'état physiologique et bousculer la résilience de la larve. De façon intéressante, l'algue *Nannochloropsis oculata* n'a pas, chez la coquille Saint-Jacques, les mêmes effets que ceux observés chez la moule par Jolivet et al. (2016). **Cette absence de variation dans la physiologie de nos larves confirme que les indices de fixation trophiques ('*trophic settlement trigger*') sont propres à chaque espèce.**

Cette absence d'effet nous a permis d'adapter le protocole du **Chapitre 4** pour utiliser cette fois la température comme paramètre de modulation de la physiologie et prolonger l'exposition. La modification de la température d'élevage nous a permis d'obtenir avec succès deux lots de larves aux contenus lipidiques distincts. La modification de l'état physiologique par la température a été confirmée par des performances larvaires très différentes tant au niveau de la survie que de la croissance et du comportement de fixation. Nous avons aussi montré que les modifications de l'état physiologique des larves par la température varient selon le stade de développement des larves.

A 20°C, les larves présentent un taux de croissance et un métabolisme supérieurs à ceux observés à 15°C. Cependant, au stade véligère, les larves élevées à 20°C possèdent



moins d'acides gras dans leur fraction de stockage, en lien avec un taux de mortalité plus élevé, tandis qu'au stade pédivéligère elles accumulent plus de lipides de réserve et structurels que celles élevées à 15°C, en lien avec de meilleurs taux de survie.

Grâce à la température, nous avons ensuite pu démontrer que la réponse ontogénique au son interagit avec l'état physiologique des larves. Si, au stade véligère, le battage de pieu augmente la rétention de lipides structurels sans interaction avec la température, ce n'est pas le cas au stade pédivéligère. En effet à l'approche de la métamorphose, l'exposition au son réduit la quantité d'acides gras dans les fractions de lipides de réserve et structurels des larves uniquement pour celles élevées à 20°C. Il semble alors que l'augmentation de la température amplifie l'effet du son, qui ne peut s'exprimer à 15°C car les réserves énergétiques sont déjà trop basses. L'amplification de l'effet d'un stress par la température est un phénomène observé de manière récurrente dans la littérature (Cherkasov et al., 2007; Zippay and Helmuth, 2012). Réciproquement, le son semble réduire les mécanismes compensatoires du stress thermique. **Notre hypothèse est que la pollution sonore requiert une protection contre le stress qui empiète sur les défenses thermiques. Il semble également que ces deux stress, thermique et acoustique, ont des effets antagonistes sur l'état physiologique des larves.** On remarquera également que la température, contrairement au son, module tous les critères de performance, soulignant l'importance du facteur thermique dans le développement des larves (Zippay and Helmuth, 2012).

I.4. Définir un stade critique de la réponse acoustique dans le développement larvaire

Le concept de « fenêtre critique » en écologie décrit une période du développement d'un organisme durant laquelle il est plus vulnérable au stress (Burggren and Reyna, 2011) (Figure 38). Cette altération phénotypique résulte de l'interaction entre le génotype et l'environnement. Si l'organisme est exposé à un facteur de stress environnemental en dehors de cette « fenêtre critique », il n'exprimera pas de modification de son phénotype : avant la fenêtre parce qu'il est trop simple pour détecter le stress et après parce qu'il est assez mature pour le parer (Burggren and Reyna, 2011). Au cours de cette thèse, nous avons mené des expériences d'exposition au son à quatre



moments distincts du développement larvaire avec pour but de mettre en évidence de potentiels effets ontogéniques.

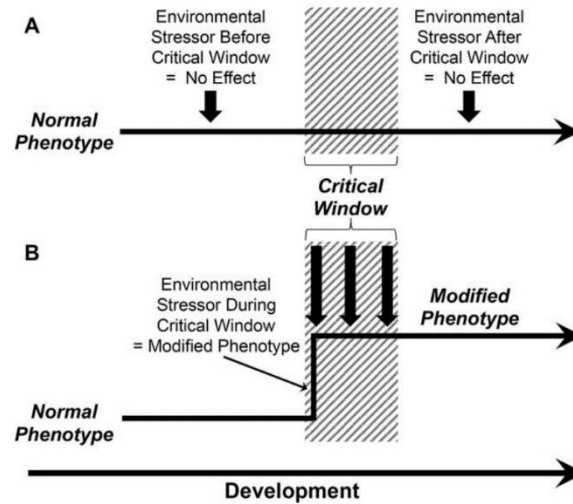


Figure 38 : Concept de « fenêtre-critique ». (A) L'application d'un facteur de stress avant ou après la fenêtre temporelle n'induit pas de réponse de l'organisme alors que (B) la présence du facteur de stress à un stade critique du développement modifie son phénotype (Burggren and Mueller, 2015).

Chez les invertébrés, le statocyste est largement désigné comme l'organe de détection du son (Budelmann, 1992; Kaifu et al., 2008). Chez les bivalves tels que nos deux espèces d'étude, une paire de statocystes apparaît de part et d'autre de la glande digestive, avant l'acquisition de la compétence, au stade de larve véligère âgée dite « œillée ». Chez la coquille Saint-Jacques, ils sont bien visibles au microscope au début du stade pédivéligère à la base du pied (Figure 39). Dans le cas où les statocystes sont les seuls organes de l'audition, le son ne devrait pas avoir d'effet sur les larves avant l'acquisition des statocystes. Or les résultats du **Chapitre 3** ont montré un effet du battage de pieu sur le taux de croissance des larves véligères jeunes de coquilles Saint-Jacques et ceux du **Chapitre 4** des effets du battage sur le contenu lipidique des véligères de praires. Nous pouvons donc émettre l'hypothèse qu'il existe, avant l'apparition de statocystes, un autre système de perception du son chez les larves de bivalves.

Nos expériences n'ont pas montré une sensibilité accrue au stade pédivéligère. Considérant le rôle écologiquement important de ce stade charnière dans le développement de l'individu, les effets du son peuvent néanmoins avoir des répercussions plus importantes que ceux sur les véligères et post-larves. Ces effets sont discutés dans la partie I.2.

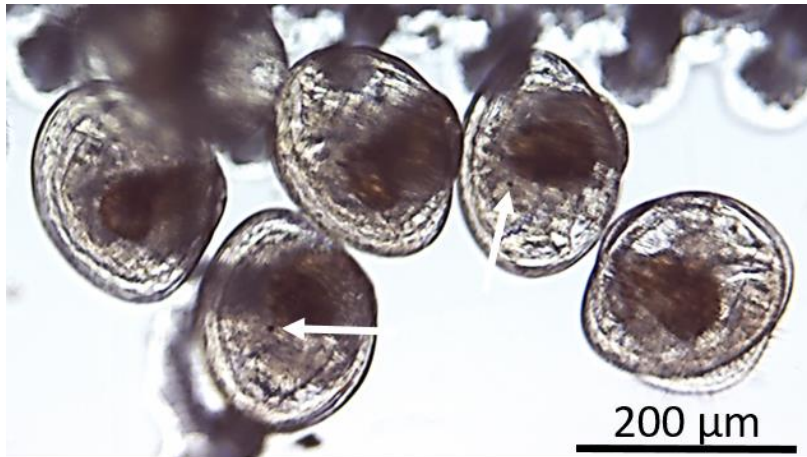
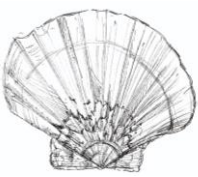


Figure 39 : Larves pédivéligères de coquilles Saint-Jacques 29 jours après la fertilisation. Les statocystes sont indiqués par les flèches blanches.

I.5. Définir une aire d'impact acoustique sur des larves

En fonction des propriétés du milieu et de la puissance de la source sonore, la distance de propagation d'une onde acoustique est hautement variable. A mesure qu'elle se propage dans le milieu, l'onde est atténuée et son niveau sonore diminue. Ce schéma simplifié ne prend pas en compte les phénomènes de réverbération qui conduisent à une propagation bien plus complexe de l'onde. En 1995, Richardson et al. ont conceptualisé le concept d'aire d'impact sous le nom de '*Zones of noise influence*' (Figure 40). Selon sa distance à la source et donc l'intensité acoustique reçue, un individu pourra avoir des réponses très différentes, allant de la simple détection jusqu'à la perte d'audition, le traumatisme et même la mort. La zone d'audibilité, plus étendue, est la zone dans laquelle le son est détecté par l'organisme, sans qu'il y ait forcément d'effet sur l'individu. La zone de masquage correspond à la zone où les bruits anthropiques vont couvrir les communications sonores entre individus ou le paysage acoustique naturel, incluant la géophonie et la biophonie caractéristiques d'un milieu. La zone de réponse est définie comme celle où la pollution sonore entraîne des réponses comportementales ou physiologiques. Les modifications comportementales peuvent être des réactions d'évitement de l'aire ou au contraire d'attraction, une modification de la nage, une réduction du comportement de fuite à la prédation ou un relâchement des bancs. Les réponses physiologiques peuvent être par exemple une augmentation des hormones de stress, une modification de la respiration ou de la croissance. Dans la zone de traumatisme, le son est assez puissant pour entraîner des blessures physiques ou des



lésions de l'appareil auditif accompagnées d'une diminution des capacités d'audition. Ce modèle a été largement utilisé chez les mammifères marins et notamment dans la perspective de réguler les émissions sonores. Des niveaux seuils ont été établis par un ensemble d'experts chez les mammifères (Southall et al., 2021, 2019), les poissons, les œufs de poissons et les tortues (Popper et al., 2014) pour toutes les catégories d'espèces, en fonction de leur appareil auditif et des caractéristiques de chaque type de source sonore. Mais les études d'impact sur les invertébrés sont encore trop peu nombreuses pour établir des niveaux seuils propres à ce groupe. Etant donné la grande variabilité de la sensibilité acoustique et des réponses au son entre les espèces, les aires d'impact sont propres à chacune. En utilisant trois niveaux sonores croissants de battage et de forage, nous espérons déterminer la zone d'impact propre à la coquille Saint-Jacques.

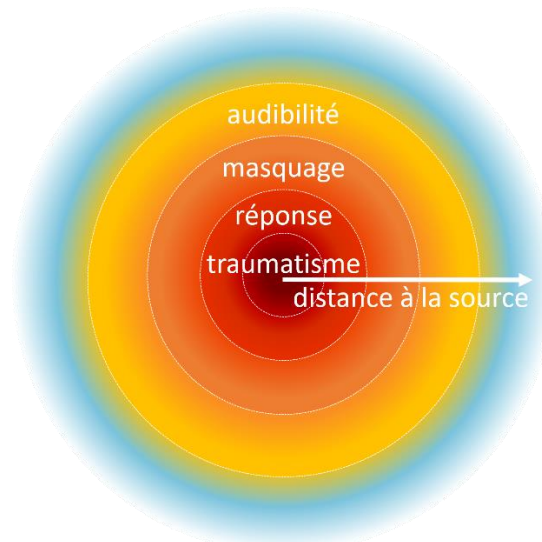
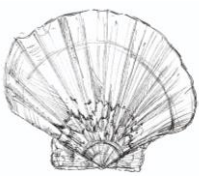


Figure 40 : Zones d'influence des émissions sonores.

Les travaux menés pendant cette thèse ont mis en lumière un effet du battage ou du forage sur les larves à partir du niveau le plus faible d'exposition pour chaque type de son. Nous avons estimé la distance correspondant à chaque niveau en appliquant une loi de perte de propagation de $15 \cdot \log_{10}$ (distance en m). Ce modèle de propagation théorique dont l'utilisation est conseillée quand les propriétés du milieu sont inconnues, est intermédiaire entre le modèle sphérique et le modèle cylindrique. Ainsi les niveaux de sons de forage devaient correspondre à environ 20 km, 1 km et <1 m et ceux de battage à 80 km, 4 km et 200 m. La zone de réponse de la coquille Saint-Jacques commencerait donc à 20 km du battage de pieu et 80 km du forage.



Nous avons montré que parfois la réponse et le niveau sonore varient de manière linéaire. Par exemple dans le **Chapitre 1**, le taux de croissance des post-larves est significativement augmenté par le niveau le plus fort de forage et les valeurs sont intermédiaires pour les niveaux d'exposition faible et moyen. De même dans le **Chapitre 4**, nous avons détecté des perturbations de l'état énergétique des larves véligères de praires dès le niveau faible de battage de pieu et qui s'intensifient au niveau fort. A l'inverse, de façon récurrente dans nos expériences, les réponses les plus marquées ne sont pas toujours obtenues avec le niveau de son le plus fort. Par exemple au **Chapitre 1**, le taux de croissance associé au niveau de battage intermédiaire est plus élevé que celui aux niveaux fort, faible et contrôle. De même, dans le **Chapitre 4**, l'effet de battage sur le contenu énergétique des pédivéligères constaté au faible niveau sonore n'est pas significatif pour le niveau fort. Enfin dans le **Chapitre 3**, nous avons démontré que les adultes soumis au battage de pieu produisaient moins d'œufs atrophiés, mais que cette différence significative au plus bas niveau d'exposition ne l'est pas au niveau élevé. Nous remarquons donc que l'effet du son ne suit pas son intensité de manière monotone.

Le concept de « fenêtre critique » décrit dans la section précédente (I.4.) peut aussi s'envisager en deux dimensions (Figure 41). Un facteur de stress peut avoir un effet sur un organisme à un moment de son développement et pour une dose donnée, qui dépend à la fois de son intensité et de sa durée. Une faible intensité de stress pourra ne pas induire de modification phénotypique si elle est en dessous du niveau de détection de l'organisme et, à l'inverse, un stress élevé pourra surpasser les capacités de réponse de l'organisme (Mueller et al., 2015). Si l'interaction entre la dose et le stade de l'exposition détermine la réponse et son intensité, la significativité de la réponse ne croît pas toujours linéairement avec le niveau de bruit. Pine et al., (2012) suggèrent d'ailleurs qu'en terme d'impact du son sur les invertébrés, la composition fréquentielle importe plus que le niveau.

De plus, seules les modifications drastiques du phénotype sont relevées par les analyses statistiques. Les sources de variations, telles que les imprécisions de mesures ou la variabilité inter-individus, augmentent les seuils de détection qui sous estiment donc d'autant plus la fenêtre des modifications observées (Figure 41) (Burggren and Mueller, 2015).

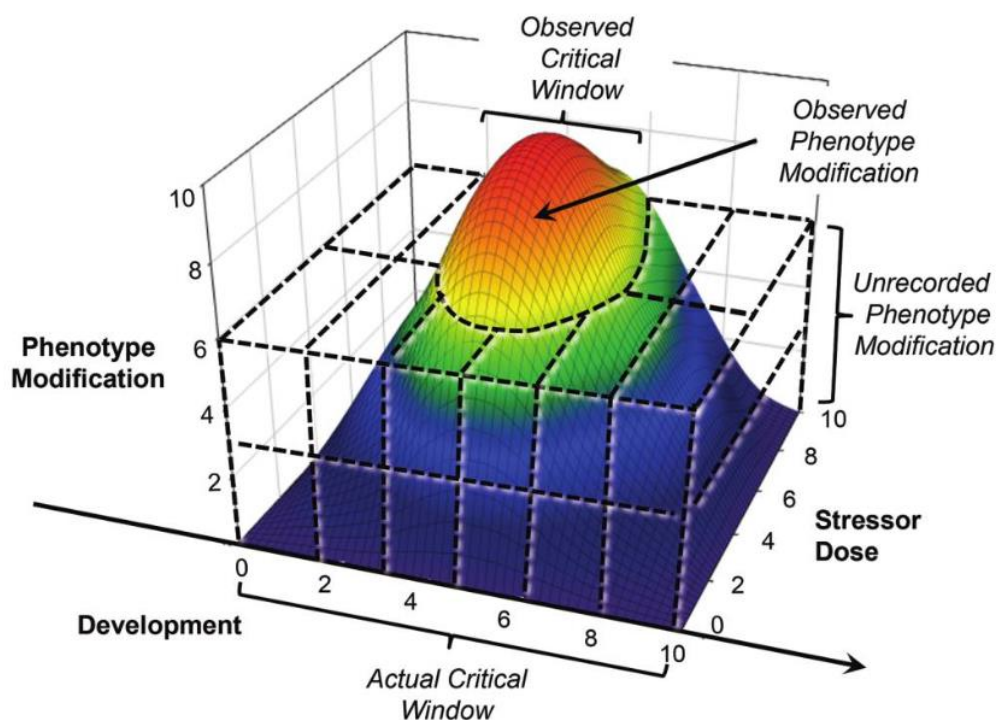
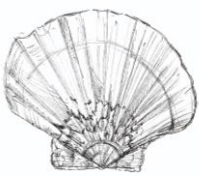


Figure 41 : Représentation de la « fenêtre critique » tridimensionnelle où l'observation de l'effet dépend du stade de développement, de la dose de stress et de la méthode statistique employée (Burggren and Mueller, 2015).

Enfin, les composantes d'un système biologique (moléculaire, physiologique ou morphologique) peuvent réagir de différentes manières et à des temps différents en fonction de la dose (Burggren and Mueller, 2015). Par exemple dans le **Chapitre 4**, l'effet du fort niveau de battage n'a pas d'effet significatif sur le contenu énergétique des pédivéligères tandis qu'il entraîne une diminution de la fixation et de la mortalité. Notre approche méthodologique a permis d'identifier des « fenêtres-critiques » à différents niveaux du système et cela illustre bien la complexité de définir une simple zone d'impact.

Ces multiples sources de variabilité rendent impossible l'établissement d'un seuil d'impact ou d'une zone d'impact à l'aide de nos seules recherches. Cependant, il est important de noter que nous n'avons pas observé d'effet léthal très marqué, ce qui laisse à penser qu'aucun de nos sons ne correspondait à la zone traumatique.



II. Enjeux pour les futurs chantiers offshore

II.1. Transcription des résultats dans le milieu naturel

II.1.1. Etude en laboratoire *vs* terrain

Pour mener cette étude, nous avons choisi une méthodologie expérimentale en milieu contrôlé. Comme la nôtre, la majeure partie des études d'impact de l'anthropophonie sur les invertébrés sont réalisées en laboratoire (Wale et al., 2021). Une expérience en laboratoire a l'avantage de pouvoir contrôler finement tous les paramètres d'élevage. Cela simplifie grandement l'interprétation des résultats puisqu'il est possible de faire varier uniquement le facteur testé. Cependant, la conception même de l'expérience, qui recherche l'effet d'un ou plusieurs facteurs, influence principalement l'issue du test (Spicer, 2014). De plus, les réponses physiologiques à un facteur de stress dans l'environnement ne sont pas toujours celles prédites à partir d'études de laboratoire. En effet, l'état physiologique et le comportement des animaux en bassin ne sont jamais exactement les mêmes que dans le milieu naturel, ce qui influence fortement la réponse à un stress (Calisi and Bentley, 2009). Cela questionne l'interprétation des données en milieu contrôlé et leur extrapolation au milieu naturel.

A l'inverse, une expérience sur le terrain n'offre pas le contrôle de tous les paramètres. La réponse enregistrée peut donc être modifiée par une quantité de facteurs aléatoires. Le résultat est alors plus complexe à interpréter puisque potentiellement biaisé. Le « bruit » engendré par ces facteurs incontrôlables peut noyer le résultat principal et le rendre inexploitable (Calisi and Bentley, 2009). La réponse est plus proche de la réalité écologique mais est soumise à des difficultés de standardisation et de reproductibilité. Les avantages et inconvénients des deux approches sont résumés dans la Figure 42.

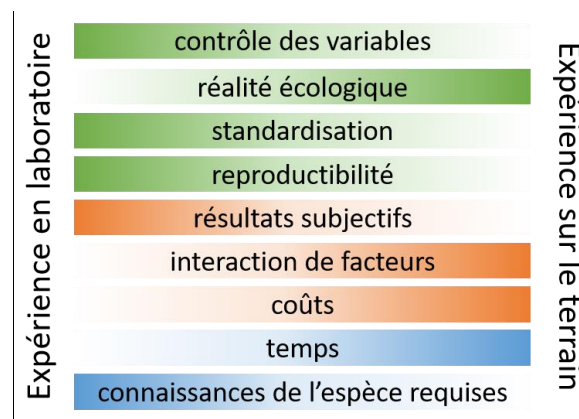


Figure 42 : Diagramme résumant les caractéristiques des approches de laboratoire et de terrain. En vert sont les critères positifs, en orange les négatifs et en bleu les neutres.



Dans notre cas, nous avons réalisé des expériences courtes (quatre à quinze jours) sans prendre en compte l'effet cumulé de plusieurs constructions d'éoliennes dans la même zone. Enfin, les études en milieu contrôlé étudient l'impact d'un facteur de stress sur une ou plusieurs espèces mais ne rendent pas compte de toutes les perturbations auxquelles les individus sont exposés lors de la construction d'un parc éolien, à l'inverse des études d'impact *in-situ*.

Il est nécessaire de réaliser des études préalables en laboratoire pour concevoir au mieux l'expérience sur le terrain, plus complexe et plus coûteuse à mettre en place. Dans cette optique les expériences en milieu contrôlé sont parfaitement adaptées et les études de terrain peuvent venir valider leurs résultats *a posteriori*. **Les deux approches prises indépendamment sont insuffisantes pour déterminer la réponse d'un organisme à un stress mais sont complémentaires pour comprendre la complexité des systèmes biologiques.**

II.1.2. Effets cumulés des perturbations des chantiers offshore

Les installations d'éoliennes offshore introduisent dans le milieu de nombreuses autres perturbations que la seule production de sons de battage ou de forage, qui sont résumées dans la Figure 44.

En premier lieu, la fréquentation accrue de bateaux sur le site augmente de fait le niveau sonore ambiant de la zone en raison du bruit des moteurs qui ajoutent du contenu dans les basses fréquences (Hildebrand, 2009). Par la seule présence de bateaux, le risque de pollution non acoustique augmente, que ce soit par fuite d'hydrocarbures ou d'huile contenue dans les appareils hydrauliques.

Le battage de pieu en lui-même remet le sédiment en suspension, y compris les éventuels polluants s'y trouvant enfouis comme des métaux lourds et des hydrocarbures (Fissel and Jiang, 2011). Dans certaines zones polluées, les études préliminaires à l'installation d'un parc éolien sont précédées d'analyses de toxicité du sédiment par carottage. La diminution de la transparence de l'eau limite l'accès à la lumière des producteurs primaires et donc réduit la photosynthèse (Teubner and Dokulil, 2002). L'augmentation de la turbidité de l'eau réduit le champ de vision des espèces présentes



et leur capacité à détecter des proies (Utne-Palm, 2002) ainsi que l'efficacité de filtration des invertébrés (Szostek et al., 2013). Les particules de sable en trop grande concentration dans la colonne d'eau peuvent abimer les branchies des larves (Au et al., 2004). Des études font état de taux de survie réduits chez les juvéniles de poissons par la remise en suspension du sédiment lors d'activités offshores (Hammar et al., 2014).

L'électricité produite par toutes les éoliennes d'un parc est transportée via des câbles moyenne tension dans une chaîne de transformateurs présente sur le site puis est exportée sur la côte via des câbles haute tension. Ce réseau de câbles est enfoui dans le sédiment entre 0.9 et 1.8 mètre de profondeur et leur installation est à l'origine de nombreuses perturbations. Les opérations de tranchage lors de leur pose détruisent mécaniquement les fonds diminuant la biomasse localement (Dunham et al., 2015), augmentent la turbidité de l'eau et produisent des bruits à des niveaux importants. La littérature existante fait état de SPL_{rms} associés au tranchage allant jusqu'à 178 dB re. 1 μPa @ 1m dans la bande de fréquence 0.7 – 50 kHz (Nedwell and Howell, 2004) et 188.5 dB re. 1 μPa @ 1m à 11 kHz (Bald et al., 2015). Pour le moment il n'existe aucune étude traitant des effets du bruit de tranchage sur la faune marine mais ils pourraient être équivalents à ceux du forage.

Pendant la phase d'exploitation, la circulation d'électricité dans les câbles entraîne, par effet Joule, une hausse locale de la température dont l'intensité et l'étendue dépendent largement des propriétés du sédiment. La littérature existante fait état de températures en surface du câble pouvant aller jusqu'à 70°C (Hughes et al., 2015) et d'une augmentation jusqu'à 10°C à 1 mètre du câble (Emeana et al., 2016). Considérant les multiples effets que peut avoir la température sur les animaux marins (Comeau et al., 2008; Leal et al., 2020; Saout et al., 1999) mais aussi sur les propriétés du substrat (concentration en oxygène, développement microbien ...), la chaleur émise par les câbles peut avoir de sévères répercussions sur le compartiment benthique.

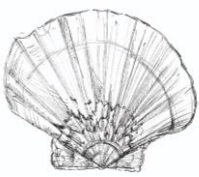
Le passage de l'électricité dans les conducteurs des câbles produit des vibrations et donc des sons continus. A titre d'exemple, un câble transmettant 138 kV émet un bruit continu mono fréquentiel dans l'eau à 120 Hz d'un $SPL_{rms} = 100$ dB re. 1 μPa @ 1 m (Taormina et al., 2018). Ces niveaux sont très bas comparés aux bruits émis lors de la



phase d'installation mais ils sont présents pendant toute la durée de la phase d'exploitation et les effets sur la faune marine d'une exposition si longue sont à ce jour inconnus.

Enfin, les câbles émettent des champs magnétiques et électriques pas ou peu isolés du milieu dont les valeurs et les caractéristiques (continus ou alternatifs) sont largement dépendantes de la conception du projet. Ces champs magnétiques peuvent atteindre une intensité vingt fois supérieure aux valeurs naturelles d'induction magnétique (5000 micro Tesla μT , synthèse dans Albert et al., 2020) mais décroissent rapidement en s'éloignant du câble émetteur (divisés par 100 à 5 mètres du câble). Les animaux qui y seraient potentiellement soumis sont donc ceux réalisant tout ou partie de leur cycle de vie sur le fond, comprenant l'ensemble du benthos et les espèces pélagiques qui chassent, se cachent ou se reproduisent proche ou à l'intérieur du sédiment. Certains organismes sont connus pour exploiter les signaux magnétiques naturels (synthèse dans Otremba et al., 2019 et Albert et al., 2020) mais la sensibilité aux champs magnétiques de nombreux groupes taxonomiques donc les invertébrés est encore peu explorée. Le manque de connaissances au sujet de la magnéto-sensibilité des espèces de mollusques et de céphalopodes suscite l'inquiétude de la communauté scientifique quant à l'introduction dans l'environnement marin de champs magnétiques artificiels (Taormina et al., 2018). Les hypothèses d'étude sont que ces champs pourraient masquer les champs naturels et donc modifier les comportements de migration ainsi que les interactions avec les proies, les prédateurs et les partenaires sexuels (Klimley, 1993; Normandeau Associates et al., 2011). Des travaux récents sur la moule bleue *Mytilus edulis* n'ont pas montré d'effet significatif des champs magnétiques associés aux câbles enterrés sur le comportement de filtration ni l'écartement valvaire (Albert et al. en révision).

Ces nombreuses perturbations peuvent interagir et grandement modifier la réponse des organismes au son. Il est donc très réducteur de ne s'intéresser qu'à la pollution sonore lors des études d'impact. Les interactions entre tous ces facteurs sont impossibles à reproduire fidèlement en laboratoire et seuls des suivis de terrain avant, pendant et après les chantiers offshore pourront répondre de leurs impacts multifactoriels.



II.1.3. Effet récif et effet réserve

A ces perturbations potentiellement délétères viennent s'ajouter l'effet récif et l'effet réserve qui pourraient contrebalancer les impacts des parcs offshore (Figure 44).

L'installation d'éoliennes introduit des structures immergées dans l'environnement qui peuvent être considérées comme des récifs artificiels. (Langhamer, 2012; Petersen and Malm, 2006). L'implantation d'une structure, telle que les fondations d'une éolienne, crée un substrat sur toute la hauteur de la colonne d'eau, sur lequel peuvent se fixer quantité d'espèces différentes à leur profondeur de préférence. La présence de ces structures à des hauteurs d'eau précédemment réservées aux seules espèces pélagiques ajoute par exemple un nouveau support de fixation pour les espèces benthiques peu profondes. De précédentes études ont montré que la colonne verticale immergée d'une éolienne était majoritairement colonisée par des animaux filtreurs comme les moules et les bernacles (Wilhelmsson et al., 2006) (Figure 43(a)).

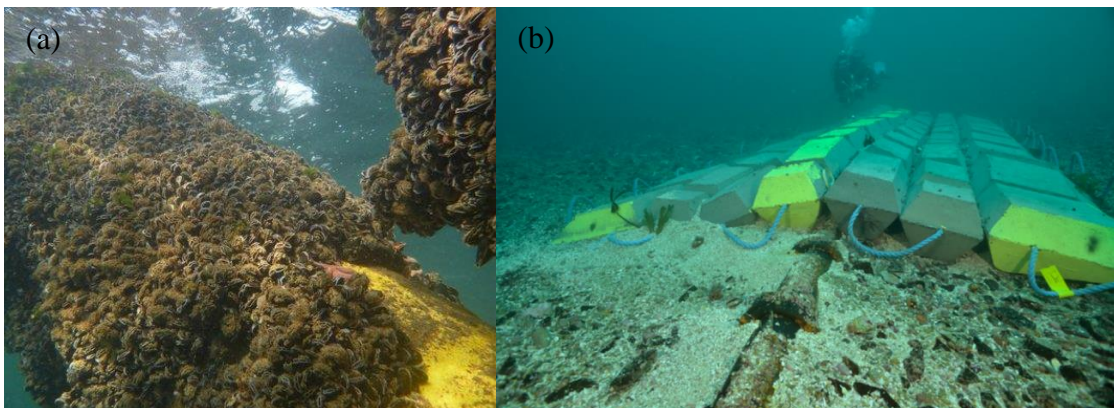


Figure 43 : Illustrations de l'effet récif sur les structures immergées des éoliennes. (a) Moules fixées sur des mâts d'éoliennes en Mer du Nord (Photos de R. Krone) (b) Structures en béton utilisées pour protéger un câble non enfoui sur le site d'essais d'hydroliennes de Paimpol-Bréhat, France (courtesy : Olivier Dugornay – IFREMER).

Les structures protégeant les câbles non enterrés sont des blocs de substrat dur (Figure 43(b)) que les espèces benthiques viennent coloniser en particulier s'ils sont installés sur des fonds meubles car ils créent un nouveau type d'habitat. En effet, le recrutement peut se faire par migration depuis le milieu environnant mais aussi par la fixation de larves depuis une plus longue distance. La complexité apportée par ces nouvelles niches est un avantage pour les juvéniles qui peuvent s'y cacher. Les protections de câbles sont en général largement colonisées par les crabes (Krone et al., 2017) et les anémones (Kogan et al., 2006). En résultat, l'installation de ces populations



peut avoir un effet positif sur les stocks et pêches de crustacés dans la zone (Hooper and Austen, 2014; Krone et al., 2017). Cette nouvelle faune peut ensuite attirer des espèces de niveau trophique plus élevé comme des poissons démersaux (Wilhelmsson et al., 2006). Une modélisation du réseau trophique de la Baie de Seine sur trente ans prévoit que l'agrégation de biomasse sur les structures artificielles agirait positivement sur la quantité de poissons, de mammifères et d'oiseaux dans la zone, augmentant l'activité de l'écosystème (Raoux et al., 2017).

Mais l'arrivée de nouvelles espèces ne faisant habituellement pas partie de cette communauté peut aussi déséquilibrer la chaîne alimentaire de l'environnement. En effet on estime que le nombre d'espèces non indigènes sur les substrats artificiels est multiplié par 2.5 (Glasby et al., 2007). Les structures offshore pourraient alors permettre l'installation d'espèces invasives épibenthiques (Wilhelmsson and Malm, 2008).

Selon les modalités de construction (câbles enterrés ou non, espacement entre les éoliennes) et les accords des autorités locales en vigueur, la pêche est parfois limitée ou interdite dans les parcs éoliens (Shields and Payne, 2014). La pêche à la drague est souvent proscrite puisqu'elle présente un risque de détérioration des câbles sous-marins. Compte tenu de l'impact écologique désastreux de cette pêche notamment par la remise en suspension de particules solides (Lindgarth et al., 2000; Tillin et al., 2006) et par la destruction directe de l'habitat benthique, son interdiction a des effets positifs directs sur l'environnement. La zone devient alors une zone sanctuaire pour les espèces exploitées, comme la coquille Saint-Jacques, dont la reproduction sur le site pourrait avoir des impacts positifs sur les stocks des zones environnantes. Cet « effet réserve » sur la biodiversité benthique a déjà été observé sur le parc de Egmond aan Zee en Allemagne (Lindeboom et al., 2011) où une aire marine protégée a été définie autour du parc et des câbles.

Ces effets « récif » et « réserve » en lien avec la mise en place d'Aires Marines Protégées pourraient limiter l'impact des parcs éoliens sur la structure et le fonctionnement des réseaux trophiques côtiers (Raoux et al., 2019) et compenser la perte d'habitat engendrée par leur installation.

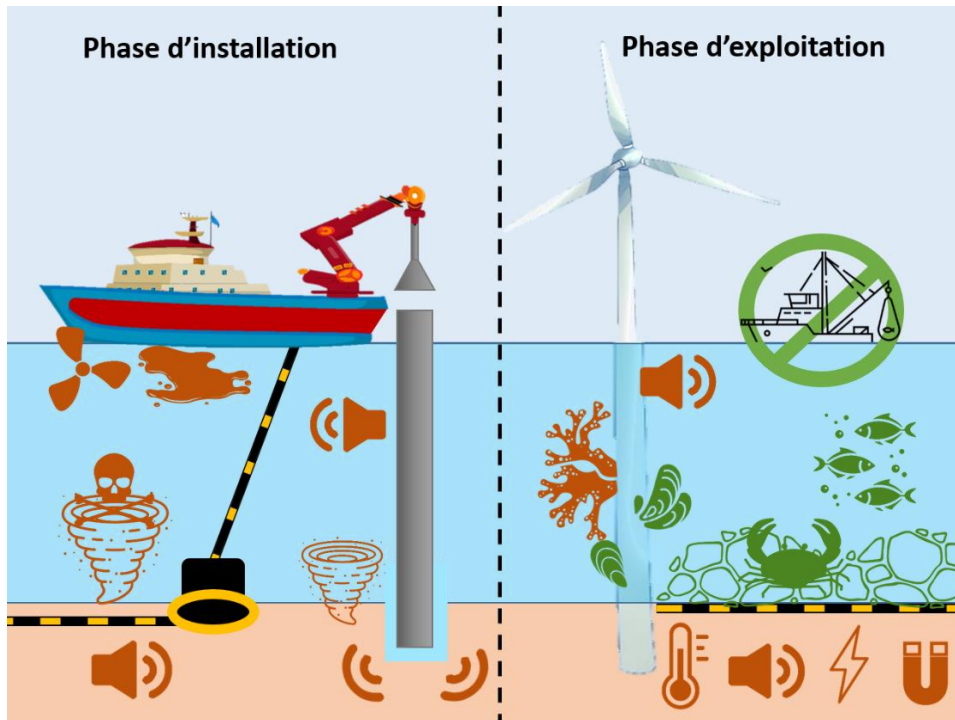
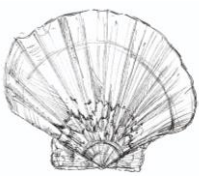


Figure 44 : Schéma résumé des effets positifs (vert) et négatifs (orange), potentiels et avérés, à court et long terme, des parcs éoliens sur l'environnement marin. Pendant la phase d'installation : bruits des moteurs et hélices de bateaux, pollution par fuite d'hydrocarbures, bruits associés au battage ou au forage, remise en suspension du sédiment et d'éventuels polluants par le battage de pieu et l'installation des câbles sous-marins et bruits associés au tranchage. Pendant la phase d'exploitation : chaleur, bruits, champs électriques et champs magnétiques associés à la présence de câbles sous-marins, effet réserve, effet récif, installation d'espèces invasives et bruit de fonctionnement des éoliennes.

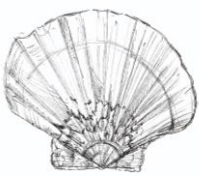
II.2. Règlements encadrant la réduction de la pollution sonore

II.2.1. Initiatives mondiales, européennes et françaises

Le bruit sous-marin anthropique est reconnu comme une source de pollution par la communauté scientifique (Barber et al., 2010; Slabbekoorn et al., 2010) mais aussi par les Nations Unies depuis 2005 (*U.N. GAOR, 60th*) et par la France depuis 2010 (loi n° 2010-788 du 12 juillet 2010 du code de l'environnement « Protection et préservation du milieu marin »). Le terme pollution désigne l'introduction de substances ou d'énergie dans le milieu naturel, susceptibles d'avoir des répercussions néfastes sur les ressources vivantes. L'Europe et la France portent des initiatives qui tendent à réduire l'émission de bruit sous-marin.



A la demande du Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie, une expertise scientifique collective (ESCo) sur les impacts environnementaux du bruit lié à l'exploitation des ressources marines a été conduite par le CNRS et l'Ifremer. En découle un livre à paraître prochainement (Bonnel et al., 2022) qui synthétise les multiples sources de bruits, les impacts des sons anthropiques sur tous les groupes d'animaux marins, les retours d'expérience sur les projets EMRs et les réglementations potentielles et en vigueur. Régulièrement, des lignes directives sont publiées par différents organismes avec pour but de limiter la pollution acoustique mais toujours axées sur les mammifères marins et l'impact du trafic maritime. Par exemple l'Organisation maritime internationale (OMI) a publié en 2014 un guide de conseils pour réduire le bruit provenant du trafic marin (*IMO MEPC.1/Circ.833*). L'ACCOBAMS (Agreement on the Conservation of Cetaceans of the Black Sea, Mediterranean Sea and contiguous Atlantic Area) a adopté dans son *Rapport de la septième réunion des parties* (2019) la résolution 7.13 concernant le bruit anthropique. La Directive-cadre Stratégie pour le milieu marin (DCSMM, 2008/56/CE) a été mise en place en 2008 par le Parlement Européen pour veiller au bon état écologique des eaux européennes, maintenir le bon fonctionnement des écosystèmes, préserver la diversité biologique et permettre l'usage durable des mers. Transposée en France en 2012 en plusieurs Plans d'Action pour le Milieu Marin (PAMM), pour chaque sous-région marine, elle mobilise une dizaine d'organismes scientifiques dont l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER) et l'Office Français de la Biodiversité (OFB). L'une de ses lignes directives concerne la réduction des pressions sonores sur les animaux marins. Dans ce but, les objectifs sont d'évaluer l'état initial des océans, définir le 'bon état écologique' et les seuils applicables. En France depuis 2019, une Communauté sur le bruit sous-marin a été créée sous l'impulsion de l'OFB et des Ministères de la Transition Ecologique et Solidaire, de la Mer et des Affaires Etrangères. Elle a pour but de partager les connaissances scientifiques et de proposer des solutions de réduction des impacts acoustiques marins. Ce groupe est constitué de scientifiques, d'industriels et de membres des ONG dont les efforts ont permis la publication en 2020 d'un *Guide de préconisation pour limiter l'impact des bruits sous-marins sur la faune marine*. Ce document détaille les solutions techniques et les bonnes pratiques à appliquer pour limiter la pollution sonore et ses impacts sur la faune marine.



Toutes ces initiatives sont des recommandations que les parties, qu'elles soient étatiques ou industrielles, sont vivement encouragées à suivre, mais ne sont absolument pas contraignantes juridiquement. L'Allemagne impose depuis 2013 aux constructeurs de parcs éoliens de respecter des seuils acoustiques (160 dB (LE,p) et 190 dB (Lp,pk) @ 750 m), s'il le faut au moyen de technologies d'atténuation du bruit (détaillées dans la section II.3.2.). En 2012, la Belgique a également fixé des seuils (Lp,pk de 185 dB @ 750 m). Le Canada, qui est très engagé dans la réduction de l'anthropophonie, est actif au sein de l'OMI et met en place des mesures incitatives. Le port de Vancouver est par exemple équipé depuis 2017 d'un hydrophone, de sorte que les bateaux les plus silencieux payent moitié prix leur stationnement, une première mondiale ! La France, qui possède le second plus vaste espace maritime mondial avec 11 millions de km² et a, de ce fait, une responsabilité toute particulière, n'a à ce jour pris aucune mesure restrictive concernant les niveaux des émissions sonores.

II.2.2. Encadrement des projets éoliens

Il existe tout de même des mesures qui encadrent les projets d'installations offshore comme la *Directive 2014/52/UE du Parlement européen et du conseil concernant l'évaluation des incidences de certains projets publics et privés sur l'environnement*, légiférée en 2014, qui a conduit en France à l'article 122 du code de l'environnement. En vertu de cet article, les projets d'installation de production d'énergie en mer doivent faire l'objet d'une évaluation d'impact environnemental.

Une étude comprend une description non seulement du projet, mais aussi des potentielles perturbations sur la biodiversité et sur la pêche professionnelle ainsi que des mesures de réduction ou de compensation des effets négatifs (Figure 45). Il faut d'abord connaître précisément les espèces présentes et leur cycle de vie. Caractériser la pression engendrée, par exemple le son, suggère de connaître le rythme et la durée des travaux, l'étendue de la zone concernée, le nombre et le type de fondations, les techniques employées et les routes envisagées. Puis, tous ces paramètres doivent être intégrés dans la mesure de l'effet de la pression sur les espèces en lien avec l'état de santé et de rareté de leur population. En cas d'impact important, le projet doit être modifié pour réduire ou compenser l'impact. Seul l'avis de l'autorité publique en charge et celui de la consultation publique, éclairés par les résultats d'une étude d'impact, peuvent autoriser un projet d'EMR.



Malheureusement, les études concernant les incidences sur les espèces marines, et surtout les invertébrés, sont trop maigres et trop récentes pour permettre une application rigoureuse de ce cadre légal. En effet, les études d'impact acoustique réalisées pendant les phases de construction d'éoliennes offshore concernent en grande majorité les mammifères et les poissons (Boehlert and Gill, 2010).

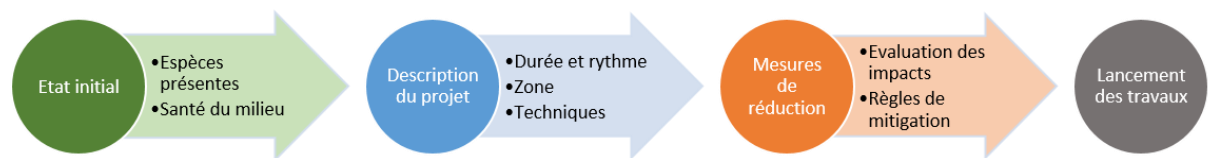


Figure 45 : Etapes d'une étude d'impact préliminaire à un chantier éolien.

II.3. Moyens techniques de réduction d'impact

II.3.1. Méthodes d'évitement

Les mesures européennes concernant les chantiers offshore comportent des mesures d'évitement ou de réduction de l'impact sur les mammifères (Figure 46), même si les seuils à partir desquels ces mesures doivent être appliquées ne sont pas définis. Premièrement, les projets doivent être soumis à une planification temporelle et spatiale. Pour cela, il est nécessaire de connaître les zones et périodes sensibles où les espèces marines sont les plus vulnérables, comme celles de reproduction, d'élevage des jeunes, de nourrissage ou de migration. Ces zones et périodes ont un intérêt écologique important et leur perturbation peut avoir des répercussions à long terme sur une population. Encore une fois, ces données de distribution, cycle de vie et sensibilité au son concernent majoritairement les mammifères. La plupart des lignes directrices recommandent aussi l'évitement des zones à forte concentration de proies afin de ne pas impacter leur disponibilité pour les mammifères marins. Les pays signataires de l'ACCOBAMS ainsi que le Brésil et l'Australie ont adopté une réglementation officielle qui définit clairement des zones où les campagnes sismiques sont interdites pendant des périodes fixes correspondant à la reproduction de plusieurs espèces de cétacés dont la baleine à bec de Cuvier (*Rapport de la septième réunion des parties à l'ACCOBAMS*, 2019). Pour l'implantation des projets éoliens, il est recommandé d'éviter les espaces maritimes restreints, comme l'embouchure d'une baie, afin de prévenir l'« effet barrière » qui fermerait le passage aux espèces venant du large vers la côte ou inversement.

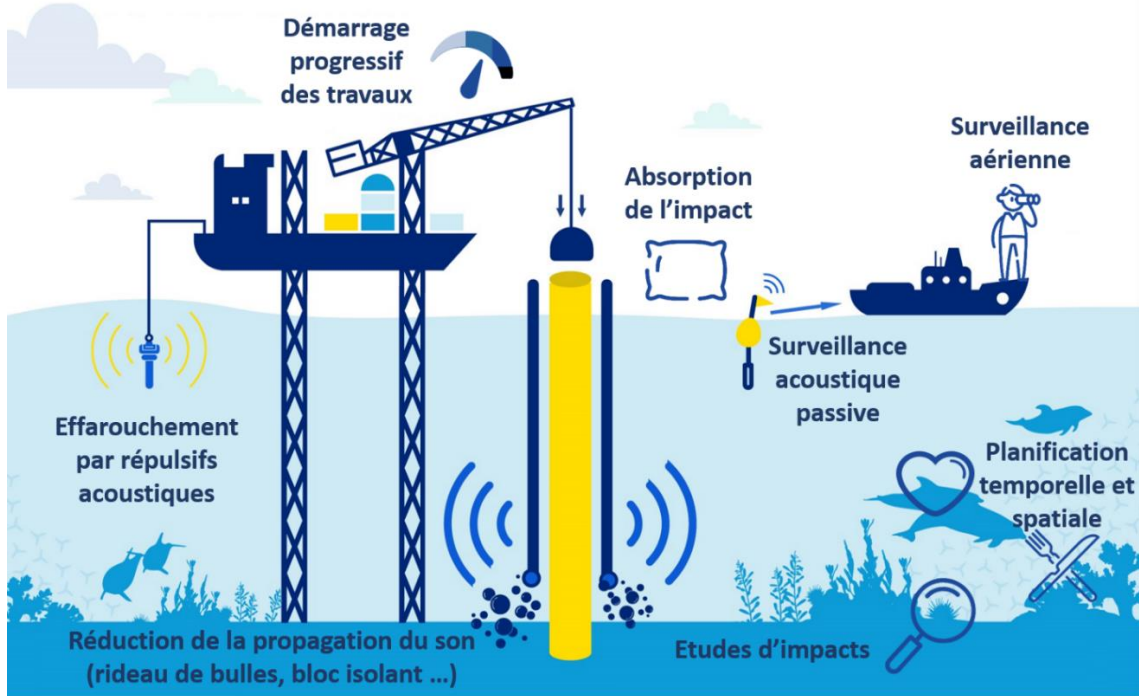


Figure 46 : Schéma récapitulatif des mesures mises en place pour prévenir, éviter et réduire l'impact des bruits d'installation offshore sur la faune marine (Modifié d'après une infographie du site du Parc éolien en mer de St-Nazaire).

Des mesures de surveillance permettent d'interrompre les opérations en cas de présence d'animaux aux abords du chantier. La zone d'exclusion recommandée par les guides de bonnes pratiques (*Guide de préconisation pour limiter l'impact des bruits sous-marins sur la faune marine*, 2020) est fixée à un rayon de 500 mètres autour de la source sonore. C'est un facteur de précaution car les niveaux sonores dans cette zone représentent un risque important de lésions. La mise en place d'observateurs de la faune marine visuels (*'Marine Mammal Observer'*) ou de dispositifs d'acoustique passive permet de détecter la présence de mammifères pendant l'heure précédant le lancement des travaux (Nowacek, 2013). Ce *pre-watch* se poursuit durant toute la durée des opérations et permet aussi de suivre la fréquentation des mammifères aux abords de la zone.

Sont également mis en place des dispositifs d'effarouchement des mammifères permettant d'induire la fuite des animaux dans la zone de travaux avant les opérations sonores (Brandt et al., 2012). Des répulsifs acoustiques, ou *pingers*, émettent par exemple des impulsions à niveau modéré ($SPL_{rms} = 150 \text{ dB re. } 1 \mu\text{Pa @ } 1\text{m}$; Hildebrand, 2009) et à différentes fréquences selon les espèces visées. Ils sont aussi utilisés pour éloigner les



mammifères des fermes aquacoles mais aussi des filets de pêche afin d'en réduire les captures accidentelles. La méthode de démarrage progressif des travaux, ou *soft-start*, laisse le temps aux individus de s'éloigner de la source sonore avant que son niveau maximal ne soit atteint (Robinson et al., 2007). En pratique, la vitesse du rotor de forage ou la fréquence de battage sont augmentées de manière progressive sur 20 à 40 minutes.

II.3.2. Réduire les émissions

Les méthodes sus-citées visent à réduire la présence d'espèces sensibles à proximité des travaux et sont désormais obligatoires en Europe. Mais il est aussi possible d'agir sur la source pour en diminuer l'intensité sonore émise. Des techniques permettent de rendre le battage moins bruyant (Figure 46).

La durée du contact entre le marteau et le pieu peut être prolongée en plaçant un coussin absorbant fait d'un matériau élastique entre les deux. Cette opération modifie le spectre émis à des fréquences plus basses tout en diminuant le niveau sonore de l'impulsion de 9 dB re. 1 μPa @1m ($\text{SPL}_{\text{peak-to-peak}}$) (Elmer et al., 2007). Mais cette méthode prolonge la durée d'émission de l'onde et donc augmente le SEL.

La technique de vibrofonçage, combinant battage et enfoncement par oscillation, permet de réduire le niveau sonore émis jusqu'à 20 dB re. 1 μPa @1m (SPL_{rms}) (Koschinski and Ludemann, 2013). Cependant elle n'est pas applicable à tous les types de substrats et produit des sons continus dont les effets ne peuvent pas être comparés au battage.

Les éoliennes flottantes (Figure 47(a)) sont en pleine expansion car elles rendent accessibles des profondeurs importantes. Elles nécessitent des travaux d'ancrage mais à des diamètres beaucoup plus réduits et donc moins bruyants. Les fondations lestées et posées sur le fond (fondations gravitaires, Figure 47(b)) ne nécessitent pas de battage et ne produisent que les sons associés aux travaux d'aplanissement du sol (Carstensen et al., 2006).

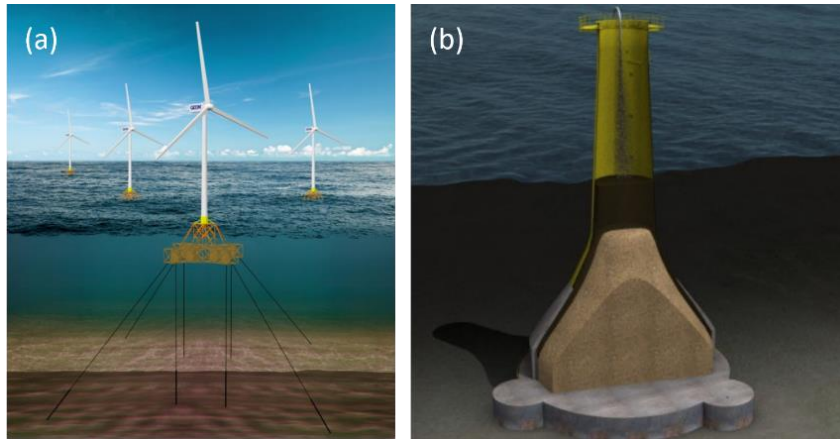
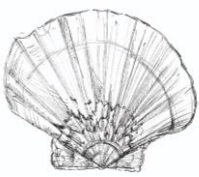


Figure 47 : Prototypes d'éoliennes offshore visant à réduire la pollution sonore pendant leur phase d'installation. (a) Modèle GICON-SOF d'éolienne flottante à ancrage léger (GICON GmbH, Rostock). (b) Modèle CraneFree développé par Seatower de fondation gravitaire remplie de sable au moment de sa pose (Koschinski and Ludemann, 2013).

II.3.3. Limiter la propagation

Enfin, des méthodes visant à réduire la propagation du son dans l'eau sont d'ores et déjà développées.

La plus répandue, le rideau de bulles (Figure 48(a) et (b)), consiste à installer sur le fond, autour de la source sonore, un tuyau perforé dans lequel est injecté de l'air. En s'évacuant, l'air forme un nuage de bulles qui remontent en surface et créent une barrière acoustique. En effet la réflexion due au changement de densité entre l'eau et l'air réduit les capacités de propagation de l'onde (Würsig et al., 2000). De plus, les bulles sont excitées à leur fréquence de résonance, absorbant l'énergie acoustique des ondes. Il en résulte une atténuation de 11 à 15 dB re. $1 \mu\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ (SEL) autour de 2 kHz (Koschinski and Ludemann, 2013). Il est possible de doubler ou tripler le dispositif sur plusieurs anneaux concentriques pour renforcer l'atténuation. L'usage d'un rideau de bulles confiné à l'intérieur d'une enceinte en acier entourant le pieu permet de réduire la propagation de l'onde même dans les zones de fort courant (Wilke et al., 2012).

Une autre méthode dite du « bloc isolant » consiste à confiner le pieu dans un épais tube en acier pouvant comporter des couches isolantes supplémentaires (Figure 48(e) et (f)). L'espace entre le pieu et l'enceinte isolante peut être vidé de son eau à l'aide de pompes (« batardeau »), confinant l'onde sonore entre les deux structures. La différence d'impédance air-eau permet d'atteindre une réduction maximale de 23 dB re. $1 \mu\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ (SEL) (Koschinski and Ludemann, 2013).



Sur le même principe que le rideau de bulles, la technique de l'*hydro sound damper* déploie, tout autour du pieu, un filet couvert d'éléments polymères et de ballons remplis d'air (Figure 48(c) et (d)). L'absorption est ajustable en fréquence par la taille des ballons et réduit l'énergie transmise dans le milieu jusqu'à 30 dB re. $1 \mu\text{Pa}\cdot\text{s}^{-1}$ (SEL) (Koschinski and Ludemann, 2013). La liste des techniques n'est pas exhaustive et beaucoup d'entre elles sont encore en développement.

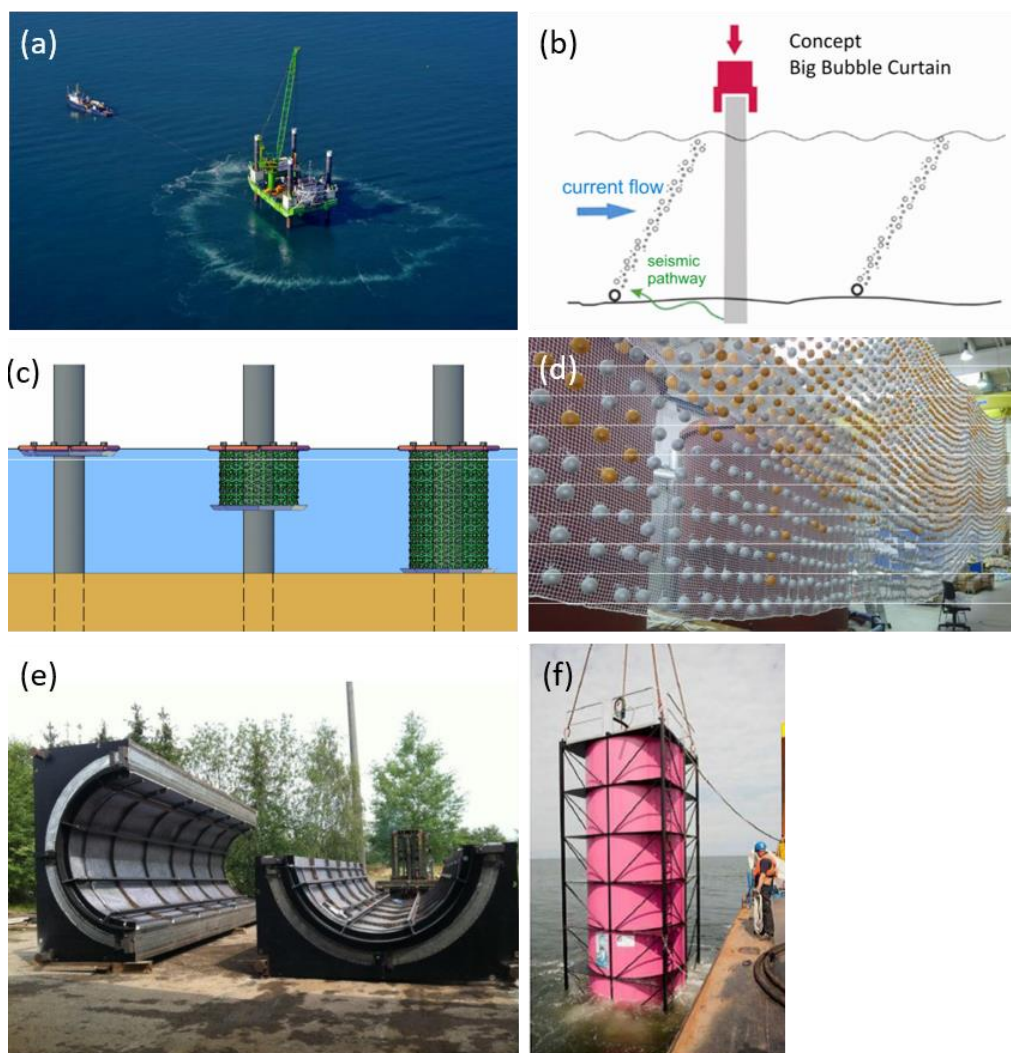
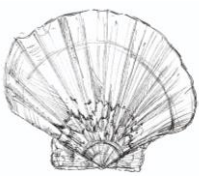


Figure 48 : Différentes méthodes d'atténuation de la propagation de l'onde sonore autour d'un battage de pieu. (a) Vue aérienne d'un rideau de bulles par Hydrotechnik Lübeck en fonctionnement sur le Parc éolien de Borkum West II (Trianel GmbH). (b) Concept du rideau de bulles schématisé (JÖRG RUSTEMEIER, ISD, modifié). (c) Structure et mode de déploiement d'un hydro sound damper (TU Braunschweig/Dr. Elmer). Les filets comportant les ballons sont fixés entre deux anneaux, l'un flottant, l'autre lesté. (d) Assemblage des ballons et éléments absorbants sur un filet d'hydro sound damper (TU Braunschweig/Dr. Elmer). (e) Bloc isolant combinant plusieurs couches d'isolants et rideau de bulle confiné, modèle BEKA Shell de Weyres Offshore, démonté et (f) en installation (Patrice Kunte).



III. Perspectives d'études complémentaires

Cette dernière partie présentera les méthodes qui permettraient de perfectionner les expériences décrites dans ce manuscrit et les éléments à prendre en compte pour améliorer les connaissances concernant les impacts potentiels des chantiers offshore. Enfin, elle suggèrera des approches complémentaires qui pourraient être mises en place à la suite de mes travaux pour comprendre les mécanismes à l'origine des réponses qui y ont été décrites.

III.1. Perfectionnement du dispositif expérimental

Pour les émissions sonores en bassins, nous avons choisi l'enceinte Clark Synthesis AQ339 Diluvio™ car son spectre, centré sur les basses fréquences, coïncidait avec les spectres des bruits anthropiques. Cependant nous avons observé une forte perte de réponse aux alentours de 800 Hz et une surexpression des fréquences entre 4 et 6 kHz. Aucune enceinte ne répond correctement dans toutes les gammes de fréquences, c'est pourquoi les dispositifs acoustiques aériens combinent plusieurs sources adaptées aux basses, moyennes ou hautes fréquences. Un tel système en version immergée n'est actuellement pas disponible sur le marché. Pour améliorer l'émission acoustique de notre système et potentiellement utiliser d'autres sons, il conviendrait de fusionner manuellement plusieurs enceintes spécialisées dans leur bande de fréquence sur le support démontable de notre *Larvosonic*.

Les sons que nous avons diffusés dans nos bassins durant nos expériences ont pour origine des enregistrements réalisés *in situ*. Face à la difficulté d'obtenir des enregistrements existants, notamment pour le forage, et à celle d'obtenir les autorisations nécessaires pour réaliser de nouveaux enregistrements, nous avons bénéficié de prélèvements sonores réalisés par la société SOMME (Société d'Observation Multi-Modale de l'Environnement). Ces sons n'ont pas été récupérés sur le site même des travaux mais à distance de la source sonore : 200 m pour le forage et 3 km pour le battage. Dans l'eau de mer, l'atténuation de l'onde acoustique est beaucoup plus faible que dans l'air. Il en résulte une propagation sur des distances très élevées mais qui dépend des caractéristiques physiques du milieu (température, pression, salinité et acidité de l'eau) ainsi que du contenu fréquentiel de l'onde (Hildebrand, 2009). Ainsi les signaux de



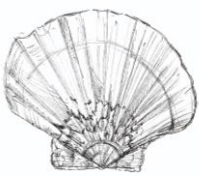
hautes-fréquences sont plus rapidement absorbés (convertis en énergie calorifique) dans le milieu et voyagent de fait moins loin que les signaux de basses fréquences. Le spectre d'un son enregistré à plusieurs kilomètres de la source est donc modifié puisqu'il a perdu une partie de son contenu en hautes-fréquences, cette perte s'accroissant à mesure que la distance augmente. Les sons de battage et de forage que nous avons utilisés contenaient donc moins de puissance dans les fréquences hautes que ceux auxquels seraient exposés les animaux dans le milieu naturel.

De même, nous avons utilisé différents niveaux sonores en lien avec des distances à la source théoriques pour déterminer une zone d'impact. Nous avons fait varier le niveau du signal dans son intégralité, sans tenir compte de l'absorption différentielle des fréquences dans le milieu marin. Les hautes-fréquences étaient donc surestimées dans nos conditions de bas niveaux de battage et de forage, correspondant respectivement à des distances de 80 et 20 km de la source. Pour correspondre plus fidèlement à l'exposition *in situ*, il serait possible de moduler le spectre de nos émissions en plus de leur niveau.

Nos résultats ont démontré que, si les conditions d'élevage en *Larvosonic* étaient compatibles avec la survie et le développement de nos larves, elles étaient inadaptées au processus de fixation et de métamorphose. En effet, de nombreux facteurs déterminants pour le choix du substrat étaient absents de notre système, favorisant le phénomène de larves désespérées.

Nous avons fait le choix de travailler en système fermé pour ne pas introduire de bruits d'écoulement dans l'environnement acoustique. L'absence de bullage dans nos bassins a éliminé tout signal d'hydrodynamisme, un facteur accélérant la métamorphose de larves de bivalves (Tremblay et al., 2020). Une potentielle amélioration du dispositif expérimental serait de mettre en place une circulation d'eau pour reproduire une turbulence propice à la fixation.

La présence d'antibiotique a empêché le développement de biofilm, qui constitue un signal favorable à la fixation (Leyton and Riquelme, 2008), induisant potentiellement un effet négatif sur la métamorphose (Pernet et al., 2006). L'utilisation de l'érythromycine n'est pas obligatoire en éclosion et certaines études tendent même à prouver que son utilisation est inefficace dans l'élevage de coquilles Saint-Jacques (Holbach et al., 2015). Elle est pourtant d'usage à l'éclosion du Tinduff aux stades précédant la métamorphose car, d'expérience, elle réduit les risques de mortalité. À l'heure où quelques études tendent à proposer des méthodes réduisant l'usage



d'antibiotiques (Kesarcodei-Watson et al., 2012; Prado et al., 2010), le Tinduff pratique également des tests sur sa production pour les supprimer entièrement. Nous avons fait le choix d'ajouter cet antibiotique pour réduire au maximum le risque de mortalité dû au développement bactérien (Nicolas et al., 1996) dans ces premières expériences en *Larvosonic* aux lourds investissements humains. Les trois expositions de larves réalisées pendant ma thèse ont montré des taux de mortalité très faibles laissant à penser que les prochaines pourront se passer d'antibiotique.

La rugosité du substrat joue un rôle considérable dans le choix du lieu de fixation. L'absence de substrat de fixation dans nos cylindres a potentiellement provoqué des retards de métamorphose. Une amélioration de notre système pourrait être de placer des collecteurs (Harvey et al., 1993; Le Tourneux and Bourget, 1988) dans nos cylindres, tels que des cordes ou des surfaces filamenteuses ou rugueuses pour offrir un support plus adapté que les parois lisses en plexiglass.

Ces modifications du dispositif expérimental permettraient d'étudier le processus de métamorphose dans des conditions plus optimales et montreraient potentiellement des réponses différentes de celles que nous avons observées.

III.2. Intégrer les interactions multifactorielles

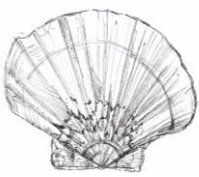
Comme expliqué tout au long de ce manuscrit, la fixation des larves est un processus qui intègre de nombreux facteurs environnementaux. Lecchini et al. (2018) ont montré que la larve planula d'une espèce de corail est induite en erreur dans le choix de son substrat de fixation par les bruits de bateau. D'habitude attirée par l'odeur des algues rouges corallines vivantes, la larve délaisse ce signal pour se diriger vers les algues mortes quand elle est soumise à ce son. **Ceci pose la question de la hiérarchie entre les facteurs de fixation, qui est probablement spécifique à chaque espèce.** En effet si l'importance du son peut surpasser les autres signaux chez les larves de coraux, il pourrait avoir beaucoup moins d'impact face, par exemple, à la composition chimique d'un biofilm ou à l'hydrodynamisme de surface chez les bivalves.

Des études tendent à montrer que la signature acoustique des récifs est un signal positif pour le recrutement des larves puisqu'il est caractéristique d'un milieu propice à leur développement dans lequel leurs congénères ont réussi à survivre (Eggleston et al.,



2016; Lillis et al., 2014a). Dans la mesure où l'introduction d'anthropophonie modifie le paysage acoustique, elle pourrait modifier le choix des larves dans leur processus de prospection. Si le phénomène de masquage est très étudié chez les mammifères marins dans le cadre des communications sociales (Lesage et al., 1999), il est beaucoup moins documenté chez les bivalves. **En ce sens, il serait intéressant de comparer l'effet des sons anthropiques avec celui de bruits enregistrés dans une zone peuplée de coquilles Saint-Jacques ou de praires, ou de cumuler les deux sons pour mettre en évidence un potentiel effet de masquage.**

Précédemment (partie II.1.2., résumé en Figure 44) ont été décrits les multiples effets de l'installation d'un parc éolien sur l'environnement. Rapidement, outre l'introduction de sons, les travaux augmentent la turbidité de l'eau et le risque de pollutions chimiques. La littérature existante (Cherkasov et al., 2007; Lannig et al., 2006; Torres et al., 2021) ainsi que nos résultats montrent que les facteurs de stress peuvent interagir pour moduler, le plus souvent en synergie, la réponse d'un organisme et entraîner un effet cumulatif plus important (Przeslawski et al., 2015; Zippay and Helmuth, 2012). Les interactions de facteurs de stress multiples dans un environnement changeant sont trop peu explorées (Zippay and Helmuth, 2012) et il est nécessaire de mener plus d'études sur les effets cumulés des chantiers pour rendre compte de la réalité écologique à laquelle les animaux seront soumis dans ces conditions. **En ce sens, une perspective intéressante serait d'utiliser le même type de design expérimental que ceux des chapitres 2 et 4 pour étudier les potentielles interactions, sur les performances larvaires, entre le son et un autre facteur tel que la turbidité ou les polluants chimiques.** Par exemple, les hydrocarbures affectent de nombreux processus physiologiques dont la fécondation et le développement larvaire de *C. virginica* (Vignier et al., 2015, 2016) et en diminuent la réponse immunitaire (Hannam et al., 2010). De plus, les modifications comportementales et physiologiques associées à la pression acoustique pourraient potentiellement augmenter la sensibilité des larves à la pollution chimique. Par exemple l'augmentation du métabolisme observée dans notre **chapitre 4** en réponse au son pourrait accentuer la bioaccumulation des polluants par augmentation de la filtration, comme proposé par Charifi et al (2018). Dans la mesure où les effets maternels de l'exposition aux hydrocarbures ont été mis en évidence chez la moule bleue *M. edulis* (Pelletier et al., 2000; Schmutz et al., 2021), il est également possible d'imaginer un protocole testant l'effet transgénérationnel de l'interaction son-hydrocarbure. Des expériences sont



actuellement en cours au sein de l'Institut des Sciences de la Mer de Université du Québec à Rimouski (dans le cadre des travaux de thèse de Delphine Veillard et du projet AUDITIF financé par l'ANR et le FRQ) pour déterminer les potentielles interactions entre la pollution aux métaux lourds et le bruit associé au trafic maritime.

Bien qu'elles soient plus réalistes sur le plan écologique que les études à facteur unique, les études multifactorielles simplifient encore à l'excès les systèmes complexes. Nous avons précédemment démontré que leurs données doivent donc être interprétées avec prudence en ce qui concerne l'extrapolation aux conditions naturelles. **Il serait judicieux de mettre en place des études de terrain pour valider les effets du son sur la dynamique de fixation des larves.** Pour cela, une expérience pourrait consister à placer des collecteurs en mer à différentes distances d'une source sonore et d'y observer la fixation des organismes. Des études similaires sont en cours dans le cadre des travaux de thèse de Nathalia Byrro Gauthier à l'UQAR (projet Auditif, site d'étude à Saint-Pierre et Miquelon). Ces travaux permettront de connaître la réponse des larves dans un contexte écologique réaliste. Pour aller encore plus loin et suivre le réel impact des chantiers éoliens, des collecteurs pourraient être placés à proximité des zones de travaux. Ceci permettrait d'intégrer les multiples perturbations qu'ils engendrent et leurs interactions, une situation beaucoup trop contraignante à reproduire en laboratoire. De plus, ce protocole aurait comme avantage d'étudier le recrutement de l'ensemble des espèces présentes sur la zone et les potentiels phénomènes de compétition.

Pour appréhender la complexité des organismes dans leur écosystème, l'approche par modélisation semble être un outil d'avenir. Plus utilisée dans le domaine de l'écotoxicologie, la modélisation est définie comme la mise en équation de phénomènes physiques, chimiques et biologiques offrant une représentation théorique simplifiée de phénomènes biologiques complexes (Devillers, 2017). En pratique, elle intègre mathématiquement des processus biologiques en se basant sur des données expérimentales qui servent à entraîner le modèle pour ensuite les extrapoler à d'autres pressions, conditions, échelles ... La modélisation est donc un outil puissant qui permet de prévoir des réponses à long terme sans devoir réaliser une succession d'expérimentations longues et coûteuses. Dans le cas des études d'impact, un modèle serait à même de combiner les réponses d'un organisme aux multiples stress dans son contexte écologique et en considérant les interactions avec les autres espèces. Le potentiel

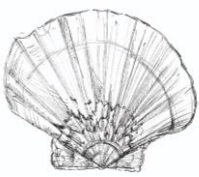


que représente la modélisation pour améliorer le réalisme des évaluations des risques écologiques est aujourd'hui reconnu (Beaudouin et al., 2015). **L'incrémentation de nos données, et de celles d'autres études, dans un modèle mécanistique serait très utile à la réalisation de prédictions qu'il conviendra ensuite de vérifier par la pratique, mais qui pourraient donner des pistes de recherche pointues et novatrices.** De plus, ce modèle pourrait intégrer un modèle de dispersion larvaire (Dupont, 2004) afin de définir au mieux la zone et la durée d'exposition des larves.

III.3. Persistance de l'effet acoustique sur le cycle de vie

Les bivalves possèdent un cycle de vie complexe composé de stades qui diffèrent tant par leur fonction que par leur habitat. La pression de sélection peut s'exercer très différemment sur les multiples stades (Werner and Gilliam, 1984) comme l'ont démontré les réponses ontogéniques au son tout au long de nos expériences. Ces stades sont reliés par des transitions extrêmes comme la métamorphose, une réorganisation totale de l'anatomie de la larve (Bayne, 1971). Nos expériences ont également montré l'impact du son sur cette transition critique.

Cependant, les étapes du développement sont aussi couplées de sorte que l'exposition à un stress pendant un stade donné peut entraîner des répercussions importantes aux stades suivants. Trois scénarios sont décrits dans la littérature : l'effet à un stade persiste au stade suivant (persistance), l'effet à un stade s'accroît au stade suivant (amplification) ou l'effet à un stade diminue au stade suivant (compensation) (Podolsky, 2006). Ainsi notre expérience transgénérationnelle (**Chapitre 3**) a montré que les caractéristiques des œufs influencent les performances des larves avant et après leur métamorphose. De la même façon, les conditions expérimentées au stade de larve planctonique peuvent modifier les performances du juvénile benthique (Gimenez, 2006; Lagarde et al., 2018; Pechenik, 2006; Werner and Gilliam, 1984). Nous avons mené des expériences à court terme (entre quatre et quinze jours) pour mettre en évidence les effets immédiats de l'exposition acoustique mais il est possible que les modifications peu marquées que nous avons observées à court terme puissent entraîner des perturbations importantes à l'échelle de la vie de l'individu. Comme les études d'impact ont aussi pour but d'estimer la persistance de l'effet dans le temps afin d'inclure la capacité d'adaptation et de récupération des organismes, il serait très intéressant d'intégrer la réponse au stress dans le cycle de vie entier de l'animal plutôt que de l'étudier à des étapes isolées du cycle.



Pour connaître les conséquences du son sur le long terme, un protocole pourrait consister à exposer les larves à un stade donné puis à observer les répercussions au stade suivant ou même au stade de jeune adulte après un grossissement en milieu naturel. Ce plan expérimental apporterait des informations inédites sur la résilience des populations de bivalves face à la pollution acoustique.

III.4. Autres mesures de l'impact acoustique

Le stress est la réponse d'un organisme face à un facteur menaçant son intégrité pour s'y acclimater et rétablir son état basal. Ce mécanisme d'ajustement passe par des voies moléculaire, physiologique et comportementale définissant les trois niveaux de réponse primaire, secondaire et tertiaire. Les trois niveaux de réponse agissent à des temporalités bien distinctes avec une réponse primaire très rapide, de l'ordre de la minute. La réponse primaire à un stress consiste en des changements rapides de production d'hormones (Liu et al., 2018) et d'expression de gènes déclenchant le métabolisme oxydatif (Alam et al., 2022; Alves de Almeida et al., 2007). Les « espèces réactives de l'oxygène », dites ROS, sont des molécules de la signalisation cellulaire produite en grande quantité en situation de stress. Dotée à la base d'un rôle de régulation des signaux cellulaires (Dalton et al., 1999), elles ont un effet délétère quand présentes à de trop fortes concentrations. En effet, les ROS produisent des radicaux libres qui provoquent des oxydations en chaîne altérant l'ADN, les lipides et les protéines et favorisant la mort cellulaire (Genard et al., 2011; Matoo et al., 2013).

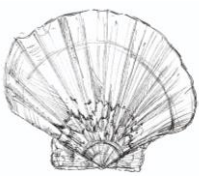
Ces mécanismes de régulation vont activer de nombreuses voies métaboliques qui constituent la réponse secondaire. Par exemple la modification du métabolisme énergétique permet de répondre à des besoins plus importants. Un stress peut donc détourner les ressources habituellement utilisées pour les fonctions de base de l'organisme et altérer ses performances, surtout quand le stress s'applique pendant une longue période (Barton, 2002). Ces altérations fonctionnelles de la croissance, de la survie ou du comportement de locomotion constituent la réponse tertiaire au stress.

Dans notre étude, nous avons mesuré la réponse tertiaire par des paramètres tels que la croissance, la reproduction, la survie et la filtration. Nous nous sommes aussi intéressés à la réponse secondaire par l'analyse des profils énergétiques de nos larves,



définissant leur état physiologique. Ces deux niveaux de réponse, conséquences plus ou moins directes de la réponse primaire, n'ont pas été investigués par nos recherches. Quantifier l'expression de centaines de gènes reliés au métabolisme du stress par des méthodes d'analyse transcriptomique permettrait de déterminer la sensibilité et le degré de stress d'un organisme au niveau cellulaire. Une analyse métabolomique permettrait de déterminer la réponse primaire des larves au son par quantification des changements de taux d'hormones et de composition en protéines. Egalement, la mesure des niveaux d'activité des enzymes visées par les ROS permettrait de mesurer le stress oxydatif. Ces approches dites « -omics » sont en pleine expansion pour comprendre la réponse de stress dans le sens de la cellule vers l'organisme entier (Zippay and Helmuth, 2012). Au regard de sa rapidité d'action, une série d'expériences courtes et répétées serait adaptée pour connaître la dynamique de cette réponse primaire.

De nombreuses études d'impact sur les invertébrés ont montré des lésions physiques du système auditif dont le principal organe supposé est le statocyste (Budelmann, 1992). L'exposition au son peut entraîner des dommages au niveau de l'épithélium des statocystes des céphalopodes (André et al., 2011) et des cnidaires (Solé et al., 2016). De telles lésions n'ont pas encore été mises en évidence chez les bivalves. Réaliser des expositions de bivalves suivie de dissection pour isoler les statocystes et les observer en microscopie électronique à balayage serait une perspective intéressante. En effet, ces dommages physiques entraîneraient des répercussions post-exposition sur le long terme. Du fait de la taille réduite des statocystes chez les invertébrés, les dissections semblent plus faciles à réaliser sur des individus adultes mais elles seraient également possibles sur des larves. De plus, de telles expériences permettraient d'établir un niveau seuil propre à nos espèces. Une étude des statocystes des larves de coquilles Saint-Jacques soumises à des bruits anthropiques a déjà été réalisée par le bureau d'étude sur une demande du constructeur éolien Ailes Marines dans le cadre du projet RESIBAD (réduction du bruit de travaux par les rideaux à bulles) (données non publiées, communication personnelle).

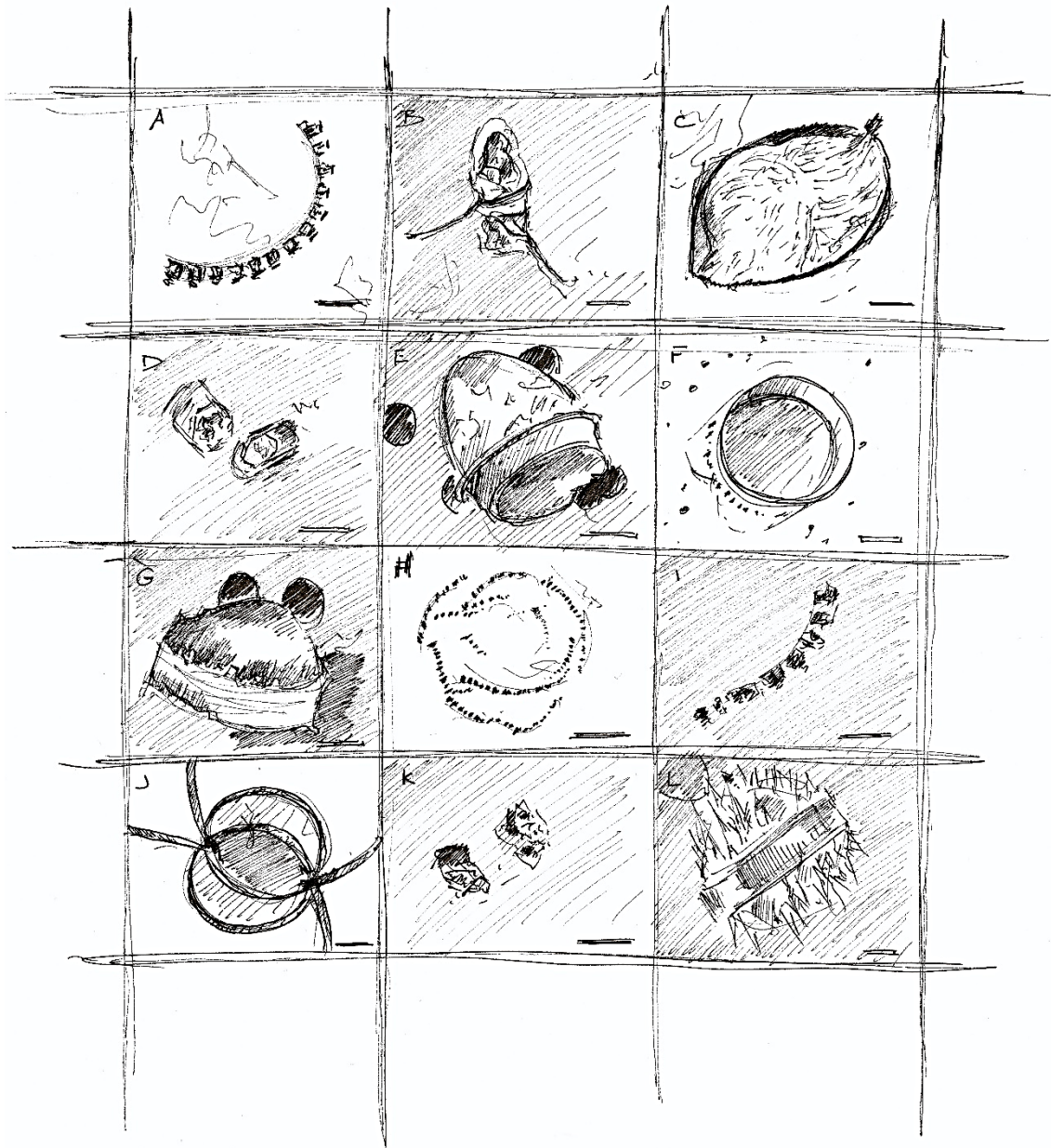


Le développement des parcs éoliens offshore est considéré par les politiques européennes comme l'avenir de la production énergétique. La pollution acoustique qu'ils engendrent peut avoir des répercussions sérieuses à toutes les échelles de l'écosystème marin.

Nous avons montré que les sons anthropiques représentent un stress pour les bivalves, au même titre que les polluants chimiques ou thermiques. Ils modulent les performances larvaires et en particulier le processus de fixation et de métamorphose qui est déterminant dans le cycle de vie des espèces. Pour la première fois, nous avons aussi montré que le son expérimenté par des adultes a des répercussions sur leurs performances reproductives et la qualité de leur descendance, laissant supposer des effets sur le long terme de la pollution acoustique. Les effets sont complexes et dépendent du stade de vie, du type de son, de l'état physiologique des individus et de l'espèce. Ils pourraient compromettre le recrutement larvaire et le renouvellement des populations.

Les études d'impact sur les invertébrés en sont à leurs balbutiements mais montrent déjà la nécessité de mieux appréhender les effets de la pollution acoustique. Notre étude ouvre de nouvelles pistes d'exploration dans la compréhension des impacts du son à l'échelle de la cellule, de l'organisme, de la population et de l'écosystème.

Il est essentiel de poursuivre les efforts de recherches pour proposer des solutions de mitigations adaptées et efficaces. Les scientifiques, ingénieurs, régulateurs et principaux acteurs de la protection des océans doivent travailler ensemble pour relever le défi de la transition énergétique tout en préservant notre biodiversité.



© Liz Hascoët / Fovearts

Annexes

Table des Annexes

Chapitre 1

- Supplementary Material 1:** Review of the studies assessing the impact of noise on young invertebrate stages in experimental tanks - **226** -
- Supplementary Material 2:** PSDs of the six tested sounds used for the *Larvosonic* calibration and their associated SPLs..... - **231** -
- Supplementary Material 3:** SPL_{rms} associated to the six sounds used for the *Larvosonic* calibration and equations used to calculate SPL_{rms} and SPL_{pp} of continuous and impulsive sounds - **232** -
- Supplementary Material 4:** PSDs and associated SPLs of pile driving and drilling sounds at different recording positions - **232** -
- Supplementary Material 5:** Fatty acid profiles of *Pecten maximus* post-larvae - **233** -
- Supplementary Material 6:** Result of the simper test showing dissimilarity in Fatty acid content.... - **233** -

Chapitre 3

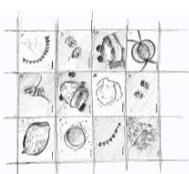
- Supplementary Material 7:** Mean fatty acid composition of adults scallop muscle, adult digestive gland, D-veliger larvae, old-veliger larvae, pediveliger larvae and post-larvae - **235** -

Chapitre 4

- Supplementary Material 8:** SIMPER Analysis on FA profiles of larvae before the sound exposure ... - **236** -
- Supplementary Material 9:** SIMPER Analysis on FA profiles of veliger larvae exposed to sound - **238** -
- Supplementary Material 10:** SIMPER Analysis on FA profiles of pédiveliger exposed to sound..... - **239** -
- Supplementary Material 11:** Warty Venus *Venus verrucosa* during spawning event - **240** -
- Supplementary Material 12:** *Venus verrucosa* larvae at different developmental stages..... - **240** -

Supplementary Material 1: Review of the studies assessing the impact of noise on young invertebrate stages in experimental tanks (19 papers).

Reference	Journal	Species	Type of sound	Exposure	Level of integration of living organism	Effects, main results	Type and volume of tested jars	Abundance per volume	recording intra-jars / intra-aquarium / speaker-jar distance
Lecchini et al. 2018	<i>Sci. Rep.</i>	Corals <i>Acropora cytherea</i> <i>Pocillopora damicornis</i>	Boat sound (2 boat's passes with an outboard 25-hp power yamaha engine, average SPL 88 ± 3 dB re $1 \mu\text{Pa}$ between 0.3 and 10 kHz) vs natural reef soundscapes protected or exploited (average SPL 78 ± 2 dB re $1 \mu\text{Pa}$ up to 2 kHz) some differing according to a day/night cycle	5 min/hour for 4 h	Counts in four-arm choice chamber	Significant preference for live Crustose Coraline Algae (CCA) for both species without sound stimulation; Playbacks of all MPA sounds attracted more planulae towards live CCA than sounds of their respective non MPA; Reduction of the attraction for CCA under boat noise vs no-noise conditions for <i>P. damicornis</i> , only reduced for boat vs protected reef for <i>A. cytherea</i>	200-ml four-choice chambers (L=20 cm, diam =2.5 cm PVC pipes)	40 (0.2 planulae larva.ml ⁻¹)	no/no/earphones within the arm end of choice chamber
Branscomb and Rittschof 1984	<i>J. Exp. Mar. Biol. Ecol.</i>	Barnacle <i>Balanus amphitrite</i>	Bass frequencies 30 Hz	up to 13 days	Primary settlement rate	Reduced settlement rate of cyprid larvae up to 13 days	Polystyrene Petri dishes, 4.5 ml	50-75	no/no/?
Guo et al. 2012	<i>Biofouling</i>	<i>B. amphitrite</i>	Ultrasonic specters of 23, 63 and 102 kHz (same amplitude of 5 kPa)	24 h continuous	Primary settlement rate	Settlement rate of cyprids decreases at 23 kHz	20 mm diameter glass cylinder vial, 2 ml of seawater (5mm depth)	50-60 cyprid	yes/x/0-5 mm
Day et al. 2017	<i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i>	Scallops <i>Pecten fumatus</i>	Seismic air gun Max peak to peak 191-213 dB RE 1 mPa Median SELcum 189-198 dB re 1 $\mu\text{Pa}^2\cdot\text{s}$	hours to days (acute) or months post-exposure (chronic)	mortality, physiology behavior	State and development of spiny-lobster embryos unaltered by air gun exposure	non adapted	non adapted	non adapted

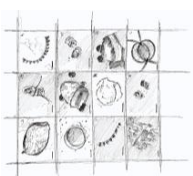


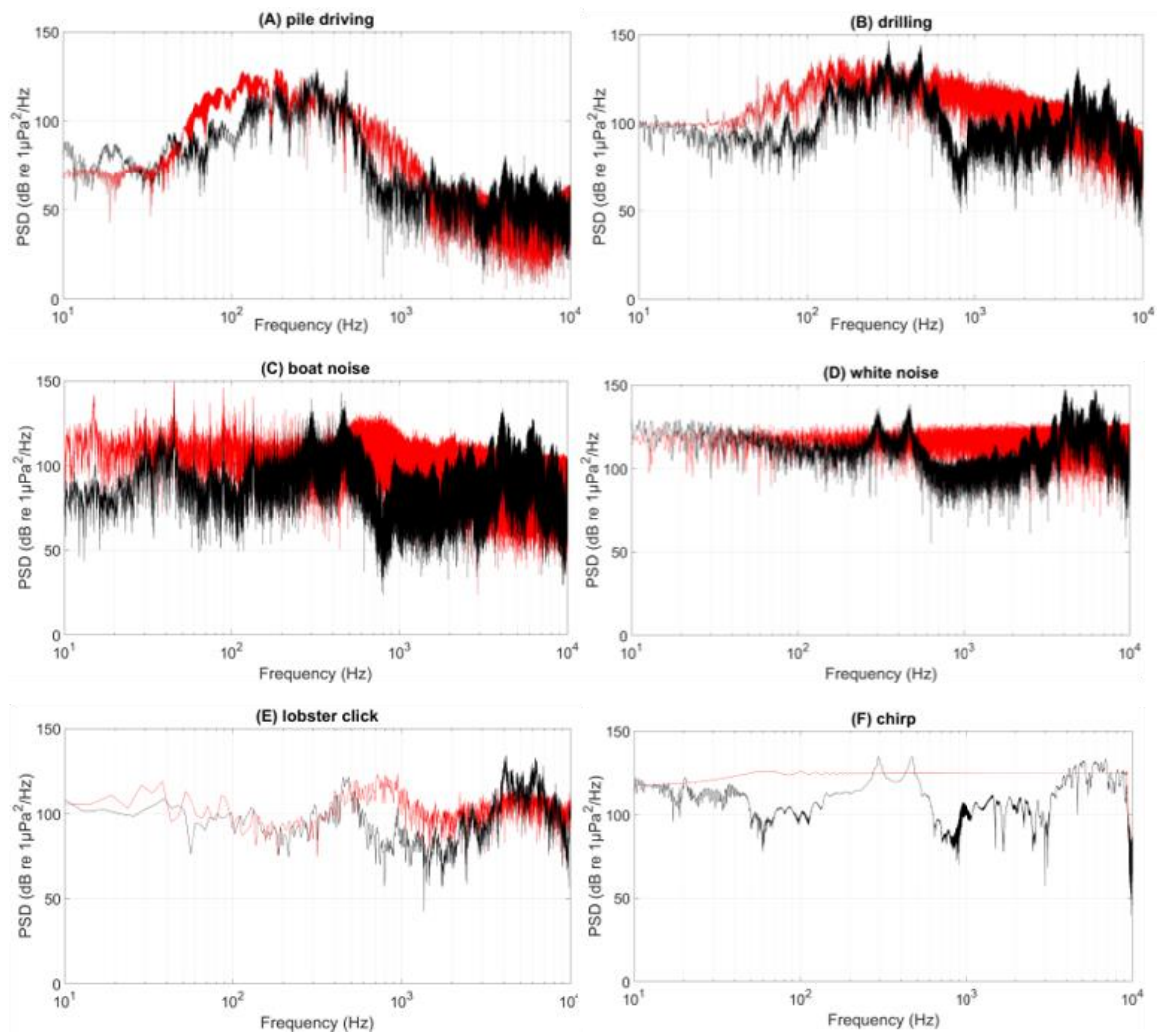
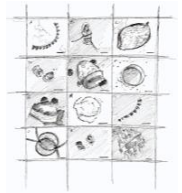
de Soto et al. 2013	<i>Sci. Rep.</i>	<i>Pecten novaezelandiae</i>	control: broadband signal 20Hz–22kHz 132dB re1mPa rms; sound: 40- 200 Hz 160 to 164 dB rms re 1mPa equivalent to (SEL) 161 to 165 dB rms re 1mPa ² ; 3-axis rms acceleration 3-4 m s ² et 3-axis rms particle velocity 4–6 mm s ⁻¹	24 to 66 h	abnormalities of embryos development and larvae	Metamorphosis delays, around half of embryos developing abnormalities at the véliger D stage	Polyethylen Flasks, 60 ml	350 eggs.ml-1 21000 eggs	no/yes/9 cm
Lillis et al. 2013	<i>PLoS ONE</i>	Oysters <i>Magallana gigas</i>	4-to-5-long recordings of natural soundscapes of oysters reefs of off-reef adjacent sandy bottoms; broadband rms SPL (corresponding rms acceleration in the 0,1-6kHz) ranging between 114.4 and 128.0 dB re 1 µPa (-45 and -37.8 dB re 1 m/s ²) for reef treatments or 109.2 and 120.3 dB re 1 µPa (-50,3 and -37.0 dB re 1 m/s ²) for soft bottom treat.	15 min looped for 2-5 days (Exp. 1) or 48h (Exp.2)	Primary settlement rate	Settlement rate of oyster larvae increases in response to reef sound compared to no sound (Exp.1) and to no sound and off-reef treatments (Exp.2)	100-ml polystyrene jars in 20 l rectangular tanks (Exp. 1) or 80-ml polystyrene jars in 20 l cylindrical tanks (Exp. 2)	100 per tank various densities (Exp.1); 100 per jar density fixed at 1.25 larva.ml-1 (Exp.2)	no/yes/ approx. 20 cm
Williams et al. 2022	<i>J. Applied Biol.</i>	<i>Ostrea angasi</i>	looped 15-min long recordings of natural marine soundscapes ('reef' or 'sedimentary') compared to ambient lab sound (Exp. 1); soundscape gradient tested in a pipe with one sound emitted at it end (Exp. 2) Acoustic spectra (rms) provided from field recording and lab experiments; particle acceleration data provided for the Lab sound treatments	15 min looped for 24 h (Exp. 1 and 2)	Primary settlement rate	Settlement rate of oyster larvae increases in response to reef by 300 % compared to ambient sound (Exp.1) 83% of larvae swim horizontally towards reef sound (compared to 44% in control) to settle in greater densities closer to its source (Exp. 2)	similar to Lillis et al. (2013): main 20-l buckets including 70 ml polystyrene jars including a settlement tile (2.5 x 2.5 cm) previously sanded (Exp. 1) or two 'flume/gutter tanks' of 800 x 7.5 cm including settlement tiles every 25 cm.	45 pediveliger larvae per replicate=jar (Exp.1); 3000 pediveliger larvae introduced in the flume tanks per trial (Exp.2)	no/yes/ < 20 cm to 8 m
Eggleston et al. 2016	The Effects of Noise on Aquatic Life II	<i>Magallana gigas</i> Clams <i>Mercenaria mercenaria</i>	natural soundscapes of oysters reefs of sandy bottoms	48h in the lab and 48-72h in the field	Primary settlement rate	Recognition of the natural habitat by oysters (primary settlement rate increases with reef sounds) not for <i>Mercenaria</i>	80-mL clear acrylic containers	100	?/yes/?
Jolivet et al. 2016	<i>Sci. Rep.</i>	Mussels <i>Mytilus edulis</i>	Fisherman boat sound 127 ± 3 dB re 1 µPa between 100 and 1000 Hz	67 h	Primary settlement rate	Stimulation of settlement rate interacting with the trophic environment, maximum of 67.5% for the noise treatment with the addition of picoeucaryotes	240-ml acrylic jars in 30 l tanks	240 (1 pediveliger.ml-1)	yes/no/6 to 32 cm

Wilkens et al. 2012	<i>Biofouling</i>	<i>Perna canaliculus</i>	High and Low intensity vessel noise (126 dB and 100 dB re 1 mPa RMS) and a Silent control	0 à 120 h	TTM on mussels pediveliger larvae	faster settlement under vessel noise (125-m long steel-hulled passenger and freight ferry): median reduction of TTM by 22% relative to a silent control. No difference in the survival among the various noise treatments. The decrease in settlement time correlated with the intensity of vessel sound	Twelve sealed 50 ml plastic vials within water baths (N=3)	1 larva / vial (0.02 larva.ml-1)	no/yes/?
Fuchs et al. 2018	<i>Proc. Natl. Acad. Sci.</i>	Mud snails <i>Ilyanassa trivittata</i> <i>Tritia obsoleta</i>	responses to: strain rate / vorticity or acceleration responses to physical variables of turbulence or wave	5 to 20 min in Lab	swimming behavior 7-10 days or 21-27 days	X	3 types of tanks from 170 l to 250 ml and petri dishes	40 to 2000 larval.l-1	yes/yes/non adapted
Nedelec et al. 2014	<i>Sci. Rep.</i>	Sea Hare <i>Stylocheilus striatus</i>	Pleasure boat sound (25 CV yamaha) Power spectral densities (PSD) illustrated for (a) SPL en dB re 1 mPa /s2 / hertz (> 100 Hz) (b) monoaxial particle acceleration dB re 1 (nm /s2) 2/Hz	5 days	embryos development	21% decrease of the successful development of embryos; increase of the mortality of hatchings by 22 % thus with significant effect on the population fitness	1.5 ml eppendorf vials put <i>in situ</i>	8-16 pieces of egg ribbon, 1-6 embryos per egg, 22000 eggs studied	no/yes1 m
Solé et al. 2013a, b and 2018	<i>PLoS ONE, Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, Biology Open</i>	Cephalopods <i>Illex coindetii</i> <i>Loligo vulgaris</i> <i>Octopus vulgaris</i> <i>Sepia officinalis</i>	Controlled Exposure Experiments (CEE) sweep sound of 50–400Hz (RL = 157 +- 5 dB re 1 µPa) peak SPL = 175 dB re 1 µPa	2h	statocysts observed just after or 12, 24, 48, 72, and 96 h after exposure (<i>S. officinalis</i>) or 48 h (other 3 species) in 2013; 0 or 24h in 2018 on other 3 species; adults in 2013 and hatchings	Damages of sensorial cells of statocysts of the 4 species increasing with time as seen in papers of 2013 (a, b); After sound exposure, damages of the sensorial epithelium of hatchings of <i>Sepia officinalis</i> , <i>Loligo vulgaris</i> and <i>Illex coindetii</i> but faster	two 2000 L tanks (control before after) one 2000? L tank for exposure	40 to 80 hatchlings	no/yes/?
Lagardère 1982	<i>Mar. Biol.</i>	Shrimps <i>Crangon crangon</i>	Continous experimental sound increasing the ambient sound in tanks of ~30 dB at 25–400 Hz	?	growth, feeding, respiration	Decrease of growth, feeding and reproduction; increase of metabolic rates (respiration and excretion)			
Day et al. 2016	<i>Sci. Rep.</i>	Lobsters <i>Jasus edwardsii</i>	Seismic air gun 223-227 dB re 1 µPa SEL peak-to-peak 200-205 dB re 1 µPa2·s Sound exposure levels (SEL) 185 dB re 1 µPa2·s	17 or 24 min for 110 - 126 pulses	Grained spiny lobster placed in traps, larval rearing to compare eggs batches, subsequent larval developpement until competency	No differences in the abundance and quality of hatching stages indicating that the development was not altered	non adapted	non adapted	non adapted

Stanley et al. 2015	<i>Oecologia</i>	<i>J. edwardsii</i>	3 sound treatments: 1 kelp-dominated rocky reef and 1 urchin-dominated rocky reef, and a silent control	0 à 360 h	pueruli larvae	Individuals moulted to first instar juveniles up to 38 % faster when exposed to the underwater sound from coastal kelp- and urchin-dominated reefs than those with no underwater sound for which settlement delay also resulted in juveniles in poorer survival and nutritional condition as measured by their protein and lipid contents	750 ml transparent plastic vials 5 per experimental tanks (no dimensions)	1 larva / vial (0.0014 larva.ml-1)	no/yes/?
Leiva et al. 2021	<i>Envir. Poll.</i>	<i>Homarus gammarus</i>	2 sound treatments: 1 ambient and 1 added noise (ambient + constant low-frequency multi-tone with source frequency around 100 Hz); one additional predator (<i>Carcinus maenas</i>) presence treatment	3 h	Young-of-the-Year individuals (cephalothorax length around 15 mm); Behavioral observations	During nighttime, joint effect of exposure to added-noise and predator presence treatment decreasing antipredator behavior (i.e., hiding) and increased exploration behavior.	60-l experimental tanks (N=16) of 56.6 × 36.0 × 42.0 cm divided into 4 equal sized substrate areas (2 rocks and 2 <i>Ostrea edulis</i> shells areas) providing shelters	11 to 14 YOY lobster per trial	no/yes/20 cm
Stenton et al. 2022	<i>Mar. Poll. Bull.</i>	<i>Nephrops norvegicus</i>	2 sound treatments: ambient or pile-driving (5h per 24h) treatment with SPL in exposure jars adjusted to 118 dB re 1µPa rms (ambient) or 170 dB re 1µPa peak-to-peak for pile-driving phases; Exp. 1: phenomological observations, Exp. 2: biomarker assays.	5 days exposure	mortality, development and behavioral fitness (escape response) from zoea I larvae followed up to juvenile with or without Cadmium addition	Increased larval mortality due to synergistical effects of pile driving and cadmium (>9.62 µg[Cd] L-1) exposure while antagonistic effect at other sound treatments; significant delays in larval development when exposure to 63.52 µg[Cd] L-1 that decrease to 6.48 µg[Cd] L-1 with pile driving sounds. Pre-exposure to the combination of piling playbacks and 6.48 µg[Cd] L-1 significantly impacts swimming behaviour of the first juvenile stage.	250-ml of seawater in 330-ml PP jars (exp. 1) or 1000-ml (exp.2) in two (Cadmium or control) 750 l thermoregulated fiberglass tanks	8 larva / vial for exp.1 (0.032 larva.ml-1) and 12 larvae per l for exp.2	no/yes/40 cm
Hudson et al. 2022	<i>PeerJ</i>	<i>Homarus americanus</i> Crabs <i>Callinectes sapidus</i>	3 sound treatments: low-frequency (60Hz<< 1kHz 'simulated boat noise' 169-172 dB re 1 µPa) or mid-frequency (1-s 1.67 kHz continuous wave pulse followed 1-s pause then 2.5-4.0 kHz 1-s chirp looped 177-182 dB re 1 µPa 'simulated sonar'), and a ambient control	periods of 60 min with 30 min sound treatment exposure	juveniles (cephalothorax length of between 50-80); Behavioral observations and hemolymph sampling at 0, 1, 3 and 7 days post-exposure; Competitive interactions on	no significant influence of sound treatment on animal mortality; physiological indicators returned to baseline levels within 48 h; increased hemolymph glucose signal 7d post-exposure for mid-frequency sound; changes in the competitive behavior of blue crabs with green crabs within 24h sound post-exposure	Acoustic exposure: one cylindrical (1.8 m diameter basis x 1.5 m height) fiberglass main tank including 4 enclosures;	one juvenile per enclosure (4 per tank considered as replicates)	no/yes/yes

					boat noise and control exposed crabs				
Pine et al. 2012 et 2016	<i>PLoS ONE</i> , The Effects of Noise on Aquatic Life II	<i>Austrohelice crassa</i> <i>Hemigrapsus crenulatus</i>	Turbine noise, level a source of 175 dB re 1 μ Pa at 1 m, pressure peaks of 0.1, 0.8, 2, 5, and 8 kHz (Parvin et al. 2005)	between 100 and 220 h	time to reach metamorphosis (TTM)	TTM of megalop larvae of both species decreased by 21–31% when exposed to natural underwater sound of the estuary when compared to the silence treatment, by 38–47% when compared to turbine noise and of 46–60% when compared to the sound recorded at the basis of and off-shore wind farm. When the emitted sound is made of 2 turbine sounds of different levels, no more effect was observed on TTM of <i>A. crassa</i> , suggesting an effect of spectral composition more pertinent than the level to explain TTM	250 ml plastic vials with 230 ml seawater; 10 vials per water bath (no dimensions)	7 megalopae larvae per vial (0.03 larva.ml-1)	yes/no/? cm
Stanley et al. 2012	<i>Proc. Roy. Soc. B</i>	<i>Hemigrapsus crenulatus</i> <i>Cyclograpsus lavauxi</i> <i>Cymo andreossi</i> <i>Schizophrys apsera</i> <i>Grapsus tenuicrustatus</i>	4 sound treatments: 3 distinct habitat sound types, 1 silent spectres detailed in Sup. Material	39 à 105 h	megalopae larvae	megalopae of five species of both temperate and tropical crabs showed a significant decrease in time to metamorphosis, when exposed to sound from their optimal settlement habitat type compared with other habitat types	250 ml sealed plastic vials 5-10 vials per water bath (no dimensions)	1 megalopae larva / vial (0.004 larva.ml-1)	no/yes/?
McDonald et al. 2014	<i>Biofouling</i>	Ascidian <i>Ciona intestinalis</i>	Cargo noise, variation according to the localization on the hull: 140.6 dB for Location 1 (adjacent to generator, starboard side), and at 138.8 dB for Location 2 (opposite generator, portside), 135.2 dB for Location 3 (stern), and at 127.5 dB for Location 4 (bow).	up to 26 h	progressive stages in settlement process	faster settlement and metamorphosis and larval survival rates higher when exposed underwater noise produced by the vessel generator	single 12-well tissue culture plate in a water bath	1 per well of 10 ml	no/yes/?





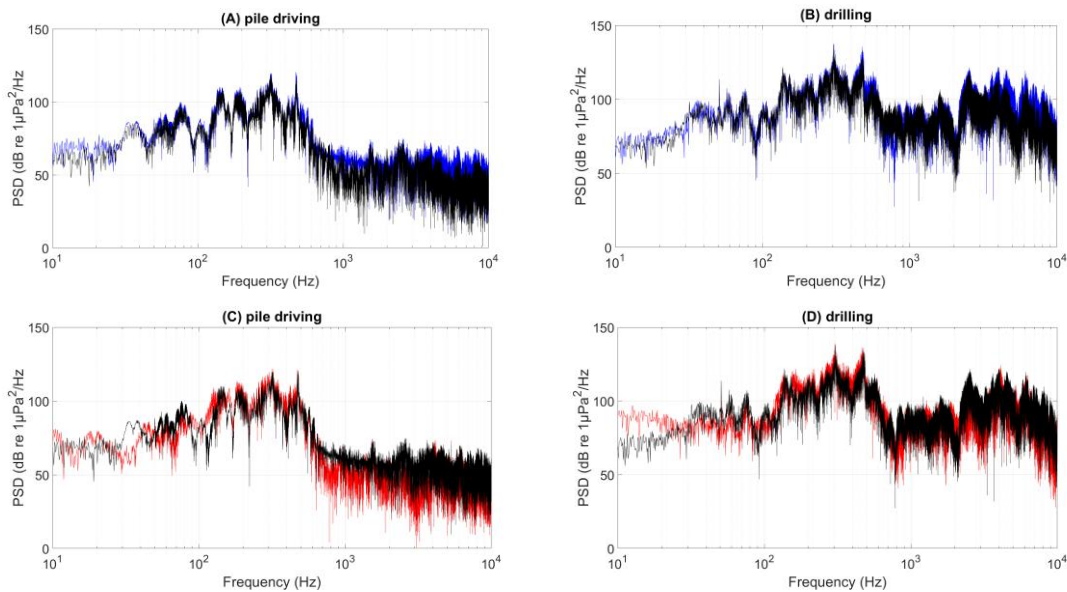
Supplementary Material 2: PSDs of the six tested sounds used for the *Larvosonic* calibration and their associated SPLs. Red spectra correspond to the original sound and the black to the sound emitted/recorded within an external cylinder.

sound	value (dB.re1μPa)	
drilling	SPL _{rms}	153
boat		144
white		145
chirp		152
pile driving	SPL _{pp}	166
lobster click		165

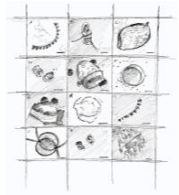
Supplementary Material 3: SPL_{rms} associated to the six sounds used for the Larvosonic calibration. For continuous sounds, such as the drilling noise, we calculated SPL_{rms} according to the equation (1). For broadband and transient sounds, such as the pile driving noise, SPL_{pp} was calculated according to the equation (2), where max(p(t)) and min(p(t)) are the maximum and minimum value for the period T.

$$\text{SPL}_{\text{rms}} = 20 \log \left(\sqrt{\frac{1}{T} \int_T p(t)^2 dt} \right) \quad (1)$$

$$\text{SPL}_{\text{pp}} = 20 \log [\max(p(t)) - \min(p(t))] \quad (2)$$



Supplementary Material 4: PSDs and associated SPLs of pile driving (A, C) and drilling (B, D) sounds at different recording positions. (A, B) and (C, D) show similar frequency spectrum at 2 depths of a same cylinder and between 2 different cylinders. Black spectra correspond to a lateral cylinder at 5 cm depth, blue spectra to the bottom of a lateral cylinder (15 cm depth) and red spectra to a central cylinder at 5 cm depth.



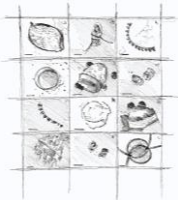
Fatty acid	Relative contribution (%)
16.0	14.50 ± 0.44
22.6ω3	12.67 ± 0.69
20.5ω3	11.9 ± 0.40
16.1ω7	8.39 ± 0.19
18.1ω7	7.69 ± 0.17
18.0	6.19 ± 0.15
18.1ω9	5.52 ± 0.09
14.0	5.24 ± 0.16
18.4ω3	3.24 ± 0.19
20.4ω6	3.04 ± 0.09
18.2ω6	2.38 ± 0.04
18.3ω3	2.17 ± 0.05
14.1ω5	1.99 ± 0.05
20.1ω9	1.81 ± 0.04
22.5ω6	1.78 ± 0.08
22.4ω6	1.26 ± 0.06
16.3ω4	1.15 ± 0.7
17.0iso	1.04 ± 0.15
ΣSFA	27.30 ± 0.67
ΣMUFA	27.55 ± 0.49
Σω3 PUFA	31.28 ± 1.16
Σω6 PUFA	10.63 ± 0.18
ΣPUFA	44.11 ± 1.28
PUFA/SFA	1.67 ± 0.09
TFA (mg/g)	9.74 ± 0.95

Supplementary Material 5: Fatty acid profiles of *Pecten maximus* post-larvae. Relative contribution (% ± SE) of *Pecten maximus* post-larvae principal fatty acids at the end of the experiment; Total Fatty Acid (TFA) concentration is given in mg/g. ΣSFA is the sum of saturated fatty acid, ΣMUFA the sum of monounsaturated fatty acid, ΣPUFA, Σω3 PUFA and Σω6 PUFA the sum of total, ω3 or ω6 polyunsaturated fatty acid.

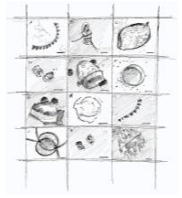
Average dissimilarity = 13,78%

Species Cum. %	Group Ref d0	Group tested d4		Diss/SD	Contrib%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss		
22.6ω3	10,48	12,95	2,12	1,45	15,40 15,40
18.4ω3	5,65	2,92	1,36	4,32	9,89 25,29
20.5ω3	13,53	11,69	1,36	1,34	9,86 35,15
16.0	14,22	14,53	1,23	1,29	8,89 44,04
18.0	4,64	6,39	0,87	2,62	6,34 50,39
18.1ω7	6,71	7,82	0,65	1,57	4,75 55,14
16.1ω7	9,02	8,31	0,64	1,44	4,67 59,81
14.0	6,09	5,12	0,60	1,49	4,39 64,20
16.3ω4	2,06	1,03	0,52	6,52	3,76 67,95
17.0iso	0,62	1,09	0,44	1,73	3,22 71,17

Supplementary Material 6: Result of the simper test showing dissimilarity in Fatty acid content between reference group at day 0 and tested group at day 4.

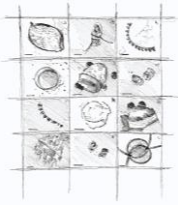


	muscle	digestive gland	D-veliger	old veliger	pediveliger	post-larvae
Σ SFA	28.95 ± 1.08	31.96 ± 2.25	30.03 ± 1.69	25.76 ± 2.64	28.05 ± 2.80	23.75 ± 2.84
14:0	2.18 ± 0.13	6.19 ± 0.78	3.34 ± 0.41	5.94 ± 1.23	5.97 ± 1.34	5.10 ± 1.05
15:0	0.75 ± 0.06	0.49 ± 0.04	0.49 ± 0.03	0.30 ± 0.10	0.42 ± 0.10	0.36 ± 0.10
16:0	17.63 ± 0.69	18.21 ± 1.45	17.41 ± 0.91	15.24 ± 1.37	16.93 ± 1.36	13.20 ± 1.41
17:0	1.00 ± 0.06	0.98 ± 0.13	1.12 ± 0.04	0.40 ± 0.33	0.55 ± 0.37	0.48 ± 0.32
18:0	7.12 ± 0.56	5.54 ± 0.88	6.95 ± 0.38	3.56 ± 1.62	3.81 ± 1.84	4.19 ± 1.72
19:0	0.14 ± 0.01	0.11 ± 0.04	0.15 ± 0.02	0.08 ± 0.03	0.09 ± 0.04	0.09 ± 0.03
20:0	0.11 ± 0.03	0.45 ± 0.08	0.18 ± 0.01	0.07 ± 0.05	0.11 ± 0.05	0.19 ± 0.05
21:0	NA	NA	0.24 ± 0.04	0.09 ± 0.06	0.10 ± 0.07	0.10 ± 0.06
22:0	NA	NA	0.16 ± 0.03	0.09 ± 0.05	0.06 ± 0.06	0.06 ± 0.05
Σ MUFA	9.93 ± 0.77	22.41 ± 0.93	24.03 ± 0.67	28.98 ± 1.97	32.32 ± 2.57	25.52 ± 2.07
14:1ω5	NA	1.90 ± 0.21	0.22 ± 0.02	0.94 ± 0.29	1.65 ± 0.35	1.82 ± 0.32
16:1ω5	0.32 ± 0.03	0.33 ± 0.04	0.35 ± 0.04	0.16 ± 0.09	0.18 ± 0.11	0.23 ± 0.11
16:1ω7	1.65 ± 0.19	8.45 ± 0.77	6.19 ± 0.75	9.98 ± 1.57	14.97 ± 2.10	9.56 ± 1.56
16:1ω9	0.51 ± 0.03	0.22 ± 0.04	0.60 ± 0.08	0.25 ± 0.16	0.12 ± 0.19	0.77 ± 0.17
17:1ω7	0.04 ± 0.07	NA	0.13 ± 0.03	0.10 ± 0.04	0.09 ± 0.04	0.12 ± 0.04
17:1ω9	NA	0.18 ± 0.02	0.21 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.20 ± 0.02	0.15 ± 0.02
18:1ω11	NA	0.18 ± 0.02	0.16 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.10 ± 0.02	0.08 ± 0.01
18:1ω5	0.15 ± 0.01	0.27 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.14 ± 0.04	0.15 ± 0.04	0.16 ± 0.03
18:1ω7	3.66 ± 0.38	5.22 ± 0.39	6.78 ± 0.20	6.39 ± 0.33	6.38 ± 0.28	5.87 ± 0.22
18:1ω9	1.43 ± 0.19	3.27 ± 0.33	6.32 ± 0.23	8.86 ± 1.20	6.63 ± 1.26	4.90 ± 1.16
19:1ω9	NA	NA	0.02 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01
20:1ω7	0.68 ± 0.17	1.05 ± 0.16	0.91 ± 0.08	0.33 ± 0.27	0.49 ± 0.29	0.47 ± 0.23
20:1ω9	1.25 ± 0.22	1.00 ± 0.17	1.39 ± 0.10	1.24 ± 0.12	1.10 ± 0.12	1.16 ± 0.08
20:1ω11	0.24 ± 0.04	0.31 ± 0.07	0.46 ± 0.05	0.18 ± 0.13	0.15 ± 0.14	0.12 ± 0.10
22:1ω11	NA	0.02 ± 0.04	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.11 ± 0.01
Σ PUFA	60.62 ± 1.16	45.18 ± 2.81	45.18 ± 2.04	44.48 ± 2.03	38.79 ± 2.01	49.57 ± 1.72
16:2ω4	NA	0.78 ± 0.13	0.37 ± 0.05	0.55 ± 0.08	0.66 ± 0.10	0.62 ± 0.07
16:2ω6	0.65 ± 0.03	0.48 ± 0.15	0.39 ± 0.05	0.60 ± 0.08	0.86 ± 0.10	1.20 ± 0.08
16:3ω3	0.99 ± 0.27	0.24 ± 0.13	1.45 ± 0.27	0.77 ± 0.45	0.43 ± 0.43	0.73 ± 0.38
16:3ω4	NA	1.04 ± 0.24	0.30 ± 0.05	0.76 ± 0.16	1.21 ± 0.24	2.09 ± 0.21
16:4ω3	0.15 ± 0.01	0.28 ± 0.03	0.23 ± 0.01	0.08 ± 0.07	0.05 ± 0.08	0.12 ± 0.07
18:2ω6	0.73 ± 0.07	1.99 ± 0.13	2.49 ± 0.16	3.62 ± 0.55	3.05 ± 0.55	2.28 ± 0.44
18:2ω9	NA	NA	0.07 ± 0.04	0.04 ± 0.04	0.08 ± 0.01	0.09 ± 0.01
18:3ω3	0.72 ± 0.14	2.28 ± 0.20	2.11 ± 0.13	3.54 ± 0.69	2.85 ± 0.69	2.58 ± 0.59
18:3ω6	0.11 ± 0.04	0.37 ± 0.09	0.42 ± 0.03	0.69 ± 0.10	0.81 ± 0.15	0.89 ± 0.12
18:4ω3	2.04 ± 0.34	6.00 ± 1.06	4.35 ± 0.32	5.08 ± 0.48	3.95 ± 0.44	5.70 ± 0.44
20:2ω6	0.44 ± 0.07	0.64 ± 0.10	0.62 ± 0.04	0.40 ± 0.10	0.39 ± 0.11	0.37 ± 0.08
20:2ω9	0.10 ± 0.04	0.15 ± 0.02	0.36 ± 0.04	0.41 ± 0.05	0.26 ± 0.05	0.25 ± 0.06
20:3ω6	0.30 ± 0.03	0.47 ± 0.06	0.37 ± 0.02	0.27 ± 0.06	0.32 ± 0.06	0.42 ± 0.04
20:4ω3	0.48 ± 0.10	0.90 ± 0.14	0.25 ± 0.02	0.10 ± 0.07	0.13 ± 0.08	0.15 ± 0.07
20:4ω6	4.12 ± 0.45	2.27 ± 0.56	2.79 ± 0.21	2.53 ± 0.34	3.20 ± 0.35	3.90 ± 0.35
20:5ω3	18.94 ± 1.00	15.70 ± 1.83	9.08 ± 0.57	9.26 ± 0.58	9.86 ± 0.56	13.79 ± 0.54
21:5ω3	1.10 ± 0.06	1.10 ± 0.15	0.54 ± 0.04	0.32 ± 0.09	0.26 ± 0.11	0.45 ± 0.08
22:2ω9	0.02 ± 0.05	NA	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.08 ± 0.01
22:4ω6	1.53 ± 0.12	0.57 ± 0.15	1.62 ± 0.18	0.66 ± 0.44	0.31 ± 0.51	0.96 ± 0.36
22:5ω3	1.34 ± 0.14	0.49 ± 0.09	0.58 ± 0.07	0.27 ± 0.14	0.26 ± 0.16	0.27 ± 0.11
22:5ω6	1.01 ± 0.09	0.49 ± 0.20	1.58 ± 0.17	1.76 ± 0.22	1.21 ± 0.21	1.43 ± 0.21
22:6ω3	25.85 ± 0.90	8.94 ± 1.27	15.11 ± 1.36	12.67 ± 1.45	8.59 ± 1.68	11.22 ± 1.11
Σ branchés	0.51 ± 0.29	0.45 ± 0.16	0.74 ± 0.30	0.80 ± 0.29	0.84 ± 0.22	1.17 ± 0.20
15:0anteiso	NA	NA	0.06 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.06 ± 0.01
15:0iso	NA	0.18 ± 0.03	0.11 ± 0.02	0.13 ± 0.02	0.12 ± 0.02	0.08 ± 0.02
17:0iso	0.51 ± 0.29	0.27 ± 0.18	0.53 ± 0.32	0.61 ± 0.31	0.67 ± 0.25	1.02 ± 0.22
18:0iso	NA	NA	0.04 ± 0.01	0.00 ± 0.02	0.00 ± 0.02	0.02 ± 0.02
PUFA/SAFA	2.10 ± 0.11	1.43 ± 0.18	1.51 ± 0.14	1.73 ± 0.19	1.39 ± 0.19	2.09 ± 0.19
ω3	51.27 ± 1.10	35.78 ± 2.77	33.70 ± 1.81	32.09 ± 1.77	26.38 ± 1.93	35.00 ± 1.62
ω6	8.85 ± 0.49	7.26 ± 1.13	10.28 ± 0.41	10.54 ± 0.37	10.15 ± 0.40	11.45 ± 0.39
ω3/ω6	5.81 ± 0.36	5.05 ± 0.89	3.28 ± 0.16	3.05 ± 0.13	2.60 ± 0.18	3.06 ± 0.18
EPA/DHA	0.73 ± 0.05	1.79 ± 0.31	0.60 ± 0.05	0.73 ± 0.06	1.16 ± 0.07	1.23 ± 0.05
TFA (μg.g ⁻¹)	9.35 ± 3.32	232.70 ± 73.07	8.16 ± 5.50	11.50 ± 5.41	28.77 ± 4.45	9.90 ± 4.54



Supplementary Material 7: Mean fatty acid composition (mean percentage of the total identified FAs \pm standard error) of adults scallop muscle, adult digestive gland, D-veliger larvae, old-veliger larvae, pediveliger larvae and post-larvae.

Σ branched, Σ SFA, Σ MUFA and Σ PUFA are the sum of respectively branched, saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids. ω 3 and ω 6 are respectively the sum of ω 3 and ω 6 fatty acids. ω 3/ ω 6 is the ratio between ω 3 and ω 6 fatty acids. PUFA/SFA is the ratio between Σ PUFA and Σ SFA. EPA/DHA is the ratio between eicosapentaenoic acid (20.5 ω 3) and docosahexaenoic acid (22.6 ω 3) TFA is the total fatty acids concentration in mg.g⁻¹. (N = 15 replicates/adult tissue, N = 36 replicates/larval stage).



(a)

Average dissimilarity = 7,38

Species	Group 15		Group 20		Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Abund	Av.Abund				
16:1w5	16	13	1.4	5.6	19	#		
20:5w3	11	8.7	1.1	4.3	14	#		
18:1w9	9.1	11	0.8	3.7	11	#		
16:0	20	19	0.7	1.7	9.5	#		
18:2w6	4.2	5.4	0.6	5.6	8.7	#		
18:0	4.8	5.5	0.5	2.4	6.8	#		
20:0	0	0.7	0.4	1.7	4.9	#		

(b)

Average dissimilarity = 5,83

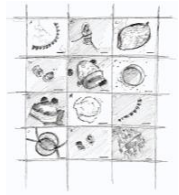
Species	Group 15		Group 20		Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Abund	Av.Abund				
22:6w3	16	18	0.8	1.4	14	#		
18:0	10	9	0.6	1.2	9.5	#		
16:0	24	23	0.5	1.4	9	#		
16:1w5	6.4	5.4	0.5	1.6	8.3	#		
21:0	0	0.9	0.4	1.6	7.6	#		
20:5w3	7.1	6.3	0.4	2.2	7.4	#		
18:3w6	0	0.8	0.4	1.7	7.1	#		
20:4w6	1.1	1.1	0.3	1.4	4.7	#		
18:1w9	6.8	6.6	0.3	1.5	4.6	#		

(c)

Average dissimilarity = 5,73

Species	Group 15		Group 20		Av.Diss	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Abund	Av.Abund				
16:0	22	20	1	3.4	17	#		
20:5w3	13	11	0.9	2.5	16	#		
16:1w5	22	22	0.5	2	9.4	#		
22:6w3	8.1	7.1	0.5	2	8.8	#		
20:3w3	2.1	3.1	0.5	7.4	8.6	#		
18:1w9	8.1	9.1	0.5	2.7	8.2	#		
18:2w6	2.9	3.7	0.4	4.2	6.6	#		

Supplementary Material 8: SIMPER Analysis. FA responsible of the dissimilarity between FA profiles of 15 and 20°C reared larvae before sound exposure experiment, with abundance for each group and percentage of contribution to dissimilarity associated: (a) veliger NL, (b) veliger PL, (c) pediveliger NL.



(a)

Average dissimilarity = 6,07

Species	Group 15		Group 20		Contrib%	Cum.%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD		
20:5w3	9.91	8.49	0.71	3.51	11.67	11.67
22:6w3	19.98	20.13	0.69	1.35	11.33	22.99
16:0	24.23	22.88	0.68	1.95	11.17	34.16
16:1w5	7.4	6.08	0.66	4.25	10.87	45.03
20:3w3	5.13	6.31	0.59	3.17	9.76	54.79
18:1w9	4.23	5.15	0.46	2.35	7.58	62.37
20:2w6	1.43	2.11	0.34	4.66	5.61	67.98
20:1w9	1.79	2.27	0.24	2.4	4	71.99

(b)

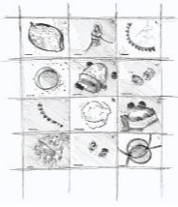
Average dissimilarity = 5,24

Species	Group 15		Group 20		Contrib%	Cum.%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD		
20:5w3	13.71	11.58	1.07	2.47	20.38	20.38
18:1w9	7.41	8.55	0.57	3.43	10.88	31.26
14:0	7.01	8.15	0.57	4.9	10.81	42.07
16:0	22.3	21.55	0.4	1.82	7.59	49.66
16:1w5	23.88	23.58	0.35	1.08	6.59	56.25
20:3w3	3.39	4.07	0.34	3.77	6.5	62.74
22:6w3	5.7	5.09	0.32	1.62	6.08	68.82
18:2w6	3.07	3.71	0.32	3.29	6.07	74.89

(c)

Average dissimilarity = 4,05

Species	Group C		Group P		Contrib%	Cum.%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD		
22:6w3	19.6	20.55	0.55	1.4	13.49	13.49
20:5w3	9.11	9.28	0.41	1.28	10.16	23.65
16:1w5	6.82	6.73	0.4	1.27	9.84	33.49
16:0	23.47	23.63	0.37	1.39	9.17	42.65
20:3w3	5.7	5.71	0.36	1.34	8.8	51.46
18:1w9	4.82	4.55	0.3	1.51	7.37	58.83
22:0	0.44	0.4	0.23	1.13	5.56	64.39
24:1w3	6.5	6.63	0.21	1.75	5.25	69.64
20:2w6	1.79	1.76	0.2	1.2	4.85	74.49

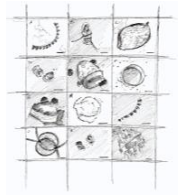


(d)

Average dissimilarity = 4,42

Species	Group C		Group P+		Contrib%	Cum.%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD		
22:6w3	19.6	21	0.74	1.8	16.64	16.64
20:5w3	9.11	9.42	0.43	1.35	9.68	26.32
16:1w5	6.82	6.65	0.4	1.41	8.94	35.26
16:0	23.47	23.37	0.37	1.4	8.27	43.53
20:3w3	5.7	5.86	0.35	1.5	7.97	51.51
18:1w9	4.82	4.56	0.31	1.52	6.94	58.44
24:1w3	6.5	6.46	0.24	1	5.53	63.98
22:0	0.44	0.59	0.23	1.58	5.1	69.08
20:2w6	1.79	1.68	0.19	1.42	4.38	73.46

Supplementary Material 9: SIMPER Analysis. FA responsible of the dissimilarity between FA profiles of veliger groups, with abundance for each group and percentage of contribution to dissimilarity associated to: (a) 15 vs 20°C PL, (b) 15 vs 20°C NL, (c) control vs low pile driving exposure PL, and (d) control vs high pile driving exposure PL.



(a)

Average dissimilarity = 9,82

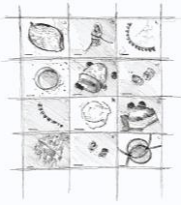
Species	Group 15		Group 20		Contrib%	Cum.%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD		
22:6w3	18.52	20.66	1.38	1.16	14.03	14.03
18:0	9.84	7.57	1.14	1.21	11.62	25.65
16:0	24.31	26.07	1.03	1.59	10.46	36.11
20:5w3	7.29	8.83	0.77	1.87	7.85	43.97
20:3w3	4.59	6.06	0.74	3.13	7.49	51.46
14:0	3.13	1.92	0.61	1.79	6.2	57.66
18:1w9	5.83	4.66	0.59	1.64	5.96	63.61
22:0	0.9	0.45	0.43	1.57	4.36	67.97
20:0	0.88	0.57	0.38	1.75	3.9	71.88

(b)

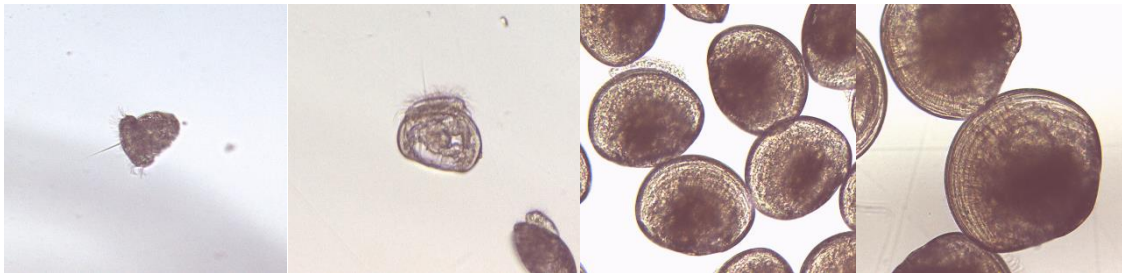
Average dissimilarity = 6,90

Species	Group 15		Group 20		Contrib%	Cum.%
	Av.Abund	Av.Abund	Av.Diss	Diss/SD		
20:5w3	12.88	15.56	1.34	3.61	19.42	19.42
16:1w5	20.43	22.77	1.17	3.07	16.94	36.36
22:6w3	7.35	5.91	0.72	2.73	10.48	46.84
18:1w9	8.38	7.17	0.6	4.34	8.76	55.6
18:0	3.13	2.19	0.47	1.49	6.8	62.39
20:3w3	2.93	3.83	0.45	5.13	6.56	68.95
16:0	21.61	22.17	0.35	1.32	5.09	74.04

Supplementary Material 10: SIMPER Analysis. FA responsible of the dissimilarity between FA profiles of 15 and 20°C reared pediveliger larvae after the experiment, with abundance for each group and percentage of contribution to dissimilarity associated: (a) PL and (b) NL.

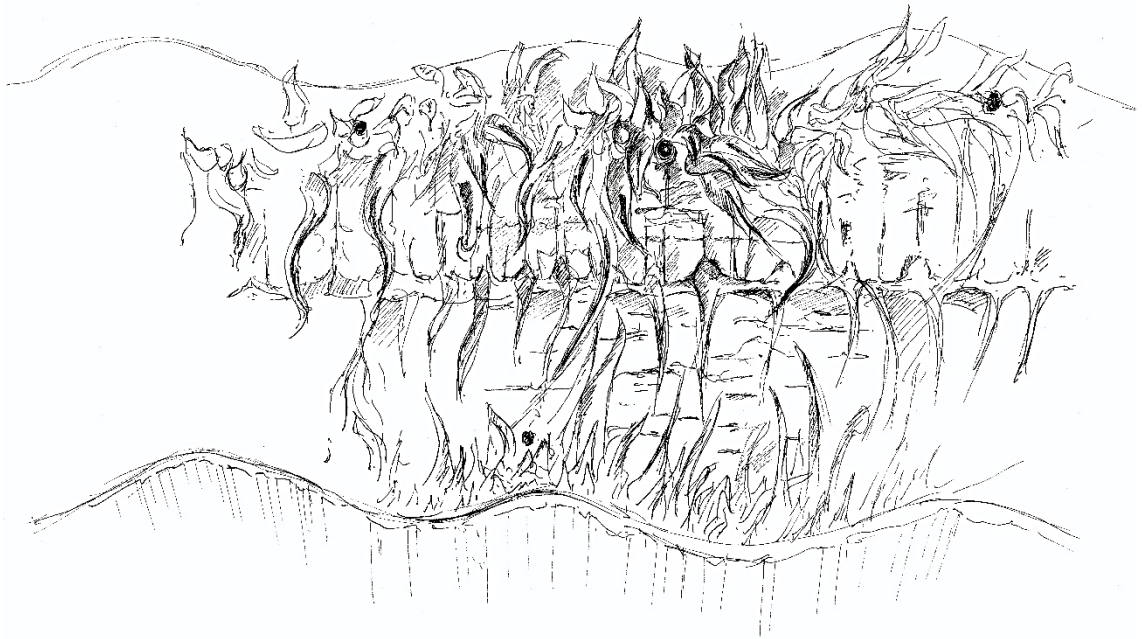


Supplementary Material 11: Warty Venus *Venus verrucosa* during spawning event. On the left: individuals during the thermal choc, on the right: isolated spawning female.



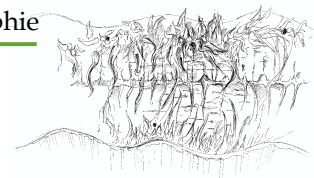
100µm

Supplementary Material 12: *Venus verrucosa* larvae at different developmental stages. From left to right: trochophore larvae at 1 dpf, trochophore-veliger larvae at 2 dpf, veliger larvae (7 or 11 dpf for 20 or 15°C rearing) and pediveliger larvae (15 or 25 dpf 20 or 15°C rearing).



© Liz Hascoët / Fovearts

Bibliographie



A

- Aguilar de Soto, N. (2016). Peer-Reviewed Studies on the Effects of Anthropogenic Noise on Marine Invertebrates: From Scallop Larvae to Giant Squid. In A. N. Popper & A. Hawkins (Éds.), *The Effects of Noise on Aquatic Life II* (p. 17-26). Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2981-8_3
- Aguilar de Soto, N., Delorme, N., Atkins, J., Howard, S., Williams, J., & Johnson, M. (2013). Anthropogenic noise causes body malformations and delays development in marine larvae. *Scientific Reports*, 3(1), 2831. <https://doi.org/10.1038/srep02831>
- Ainslie, M. A., de Jong, C. a. F., Robinson, S. P., & Lepper, P. A. (2012). What is the Source Level of Pile Driving Noise in Water? *The Effects of Noise on Aquatic Life*, p 445-448. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7311-5_100
- Akamatsu, T., Okumura, T., Novarini, N., & Yan, H. Y. (2002). Empirical refinements applicable to the recording of fish sounds in small tanks. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 112(6), 3073-3082. <https://doi.org/10.1121/1.1515799>
- Alam, M. R., Ehiguese, F. O., Vitale, D., & Martín-Díaz, M. L. (2022). Oxidative stress response to hydrogen peroxide exposure of *Mytilus galloprovincialis* and *Ruditapes philippinarum*: Reduced embryogenesis success and altered biochemical response of sentinel marine bivalve species. *Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, 4, 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.eneco.2022.01.002>
- Albert, L., Deschamps, F., Jolivet, A., Olivier, F., Chauvaud, L., & Chauvaud, S. (2020). A current synthesis on the effects of electric and magnetic fields emitted by submarine power cables on invertebrates. *Marine Environmental Research*, 159, 104958. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.104958>
- Alves de Almeida, E., Celso Dias Bainy, A., Paula de Melo Loureiro, A., Regina Martinez, G., Miyamoto, S., Onuki, J., Fujita Barbosa, L., Carrião Machado Garcia, C., Manso Prado, F., Eliza Ronsein, G., Alexandre Sigolo, C., Barbosa Brochini, C., Maria Gracioso Martins, A., Helena Gennari de Medeiros, M., & Di Mascio, P. (2007). Oxidative stress in *Perna perna* and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: Antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 146(4), 588-600. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.02.040>
- Amaral, J. L., Miller, J. H., Potty, G. R., Vigness-Raposa, K. J., Frankel, A. S., Lin, Y.-T., Newhall, A. E., Wilkes, D. R., & Gavrilov, A. N. (2020). Characterization of

impact pile driving signals during installation of offshore wind turbine foundations. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 147(4), 2323-2333. <https://doi.org/10.1121/10.0001035>

Amorim, M. C. P., & Vasconcelos, R. O. (2008). Variability in the mating calls of the Lusitanian toadfish *Halobatrachus didactylus*: Cues for potential individual recognition. *Journal of Fish Biology*, 73(6), 1267-1283. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2008.01974.x>

Andre, C., Jonsson, P., & Lindegarth, M. (1993). Predation on settling bivalve larvae by benthic suspension feeders: The role of hydrodynamics and larval behaviour. *Marine Ecology Progress Series*, 97, 183-192. <https://doi.org/10.3354/meps097183>

André, M., Solé, M., Lenoir, M., Durfort, M., Quero, C., Mas, A., Lombarte, A., Schaar, M. van der, López-Bejar, M., Morell, M., Zaugg, S., & Houégnigan, L. (2011). Low-frequency sounds induce acoustic trauma in cephalopods. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9(9), 489-493. <https://doi.org/10.1890/100124>

Androuin, T., Barbier, P., Forêt, M., Meziane, T., Thomas, M., Archambault, P., Winkler, G., Tremblay, R., & Olivier, F. (2022). Pull the trigger: Interplay between benthic and pelagic cues driving the early recruitment of a natural bivalve assemblage. *Ecosphere*, 13(1). <https://doi.org/10.1002/ecs2.3672>

Armsworth, P. R. (2002). *Recruitment limitation, population regulation, and larval connectivity in reef fish metapopulation*. 83(4), 13.

Arneri, E., Giannetti, G., & Antolini, B. (1998). Age determination and growth of *Venus verrucosa* L. (Bivalvia: Veneridae) in the southern Adriatic and the Aegean Sea. *Fisheries Research*, 38(2), 193-198. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(98\)00146-5](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(98)00146-5)

Au, D., Pollino, C., Wu, R., Shin, P., Lau, S., & Tang, J. (2004). Chronic effects of suspended solids on gill structure, osmoregulation, growth, and triiodothyronine in juvenile green grouper *Epinephelus coioides*. *Marine Ecology Progress Series*, 266, 255-264. <https://doi.org/10.3354/meps266255>


B

Bagočius, D., & Narščius, A. (2019). Underwater noise level predictions of ammunition explosions in the shallow area of Lithuanian Baltic Sea. *Environmental Pollution*, 252, 1311-1317. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.06.049>

Bailey, H., Senior, B., Simmons, D., Rusin, J., Picken, G., & Thompson, P. M. (2010). Assessing underwater noise levels during pile-driving at an offshore windfarm and its potential effects on marine mammals. *Marine Pollution Bulletin*, 60(6), 888-897. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2010.01.003>



- Bald, J., Hernández, carlos, Uriarte, A., Castillo, J. A., Ruiz, P., Ortega, N., Torre Enciso, Y., & Dorleta, M. (2015). *Acoustic characterization of submarine cable installation in the Biscay Marine Energy Platform (bimep)*. Bilbao Energy Week.
- Barber, B. J., & Blake, N. J. (1981). Energy storage and utilization in relation to gametogenesis in *Argopecten irradians concentricus* (Say). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 52(2-3), 121-134. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(81\)90031-9](https://doi.org/10.1016/0022-0981(81)90031-9)
- Barber, J. R., Crooks, K. R., & Fristrup, K. M. (2010). The costs of chronic noise exposure for terrestrial organisms. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(3), 180-189. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2009.08.002>
- Barber, V. C., & Dilly, P. N. (1969). Some aspects of the fine structure of the statocysts of the molluscs *Pecten* and *Pterotrachea*. *Zeitschrift Für Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*, 94(4), 462-478. <https://doi.org/10.1007/BF00936053>
- Barbier, P., Meziane, T., Forêt, M., Tremblay, R., Robert, R., & Olivier, F. (2017). Nursery function of coastal temperate benthic habitats: New insight from the bivalve recruitment perspective. *Journal of Sea Research*, 121, 11-23. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2016.12.007>
- Barret, L., Miron, G., Ouellet, P., & Tremblay, R. (2016). Settlement behavior of American lobster (*Homarus americanus*): Effect of female origin and developmental temperature. *Fisheries Oceanography*, August. <https://doi.org/10.1111/fog.12187>
- Barton, B. A. (2002). Stress in Fishes: A Diversity of Responses with Particular Reference to Changes in Circulating Corticosteroids. *Integrative and Comparative Biology*, 42(3), 517-525. <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>
- Bayne, B. L. (1965). Growth and the delay of metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis* (L.). *Ophelia*, 2(1), 1-47. <https://doi.org/10.1080/00785326.1965.10409596>
- Bayne, B. L. (1969). The gregarious behaviour of the larvae of *Ostrea edulis* L. at settlement. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 49(2), 327-356. <https://doi.org/10.1017/S0025315400035943>
- Bayne, B. L. (1971). Some morphological changes that occur at the metamorphosis of the larvae of *Mytilus edulis*. In *Fourth European Marine Biology Symposium* (p. 259-280).
- Beaudouin, R., Goussen, B., Piccini, B., Augustine, S., Devillers, J., Brion, F., & Péry, A. R. R. (2015). An Individual-Based Model of Zebrafish Population Dynamics Accounting for Energy Dynamics. *PLOS ONE*, 10(5), e0125841. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125841>


- 
- Beaumont, A. R., & Budd, M. D. (1983). Effects of self-fertilisation and other factors on the early development of the scallop *Pecten maximus*. *Marine Biology*, 76(3), 285-289. <https://doi.org/10.1007/BF00393030>
- Bernardo, J. (1996). Maternal Effects in Animal Ecology. *American Zoologist*, 36(2), 83-105. <https://doi.org/10.1093/icb/36.2.83>
- Bertucci, F., Parmentier, E., Berthe, C., Besson, M., Hawkins, A. D., Aubin, T., & Lecchini, D. (2017). Snapshot recordings provide a first description of the acoustic signatures of deeper habitats adjacent to coral reefs of Moorea. *PeerJ*, 5, 4019. <https://doi.org/10.7717/peerj.4019>
- Blackwell, S. B., Greene, C. R., & Richardson, W. J. (2004). Drilling and operational sounds from an oil production island in the ice-covered Beaufort Sea. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 116(5), 3199-3211. <https://doi.org/10.1121/1.1806147>
- Bleckmann, H. (2004). 3-D-orientation with the octavolateralis system. *Journal of Physiology-Paris*, 98(1-3), 53-65. <https://doi.org/10.1016/j.jphysparis.2004.03.015>
- Bligh, E. G., & Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37(8), 911-917. <https://doi.org/10.1139/o59-099>
- Boehlert, G., & Gill, A. (2010). Environmental and Ecological Effects of Ocean Renewable Energy Development – A Current Synthesis. *Oceanography*, 23(2), 68-81. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2010.46>
- Bonnel, J., Chauvaud, S., Chauvaud, L., Mars, J., Mathias, D., & Olivier, F. (2022). *Effets des sons anthropiques sur la faune marine. Cas des projets éoliens offshore*. (Editions Quae).
- Brandt, M. J., Höschle, C., Diederichs, A., Betke, K., Matuschek, R., Witte, S., & Nehls, G. (2012). *Effectiveness of a sealscarrer in deterring harbour porpoises (Phocoena phocoena) and its application as a mitigation measure during offshore pile driving* (p. 110).
- Branscomb, E. S., & Rittschof, D. (1984). An investigation of low frequency sound waves as a means of inhibiting barnacle settlement. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 79(2), 149-154. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(84\)90215-6](https://doi.org/10.1016/0022-0981(84)90215-6)
- Brewer, P. G., & Hester, K. (2009). Ocean acidification and the increasing transparency of the ocean to low-frequency sound. *Oceanography*, 22, 86-93. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2009.99>
- Bridier, G., Olivier, F., Chauvaud, L., Sejr, M. K., & Grall, J. (2021). Food source diversity, trophic plasticity, and omnivory enhance the stability of a shallow

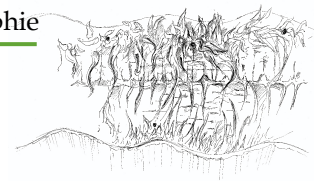


- benthic food web from a high-Arctic fjord exposed to freshwater inputs. *Limnology and Oceanography*, 66(1). <https://doi.org/10.1002/lno.11688>
- Budelmann, B. U. (1992). Hearing in Nonarthropod Invertebrates. In D. B. Webster, A. N. Popper, & R. R. Fay (Éds.), *The Evolutionary Biology of Hearing* (p. 141-155). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2784-7_10
- Budelmann, B. U., & Williamson, R. (1994). Directional sensitivity of hair cell afferents in the Octopus statocyst. *Journal of Experimental Biology*, 187(1), 245-259.
- Buestel, D., Cochard, J.-C., Dao, J.-C., & Gérard, A. (1982). Production artificielle de naissain de coquilles Saint-Jacques *Pecten maximus* (L.). Premiers résultats en rade de Brest. *Vie marine*, 4, 24-28.
- Bullock, T. H., & Budelmann, B. U. (1991). Sensory evoked potentials in unanesthetized unrestrained cuttlefish: A new preparation for brain physiology in cephalopods. *Journal of Comparative Physiology A*, 168(1), 141-150. <https://doi.org/10.1007/BF00217112>
- Burden of disease from environmental noise: Quantification of healthy life years lost in Europe.* (2011). World Health Organization, Regional Office for Europe.
- Burggren, W. W., & Mueller, C. A. (2015). Developmental Critical Windows and Sensitive Periods as Three-Dimensional Constructs in Time and Space. *Physiological and Biochemical Zoology*, 88(2), 91-102. <https://doi.org/10.1086/679906>
- Burggren, W. W., & Reyna, K. S. (2011). Developmental trajectories, critical windows and phenotypic alteration during cardio-respiratory development. *Respiratory Physiology & Neurobiology*, 178(1), 13-21. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2011.05.001>
- Butler, R. (2006). Observations of polarized seismoacoustic T waves at and beneath the seafloor in the abyssal Pacific ocean. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 120(6), 3599-3606. <https://doi.org/10.1121/1.2354066>
- Butman, C. A. (1987). Larval settlement of soft-sediment invertebrates: The spatial scales of pattern explained by active habitat selection and the emerging role of hydrodynamical processes. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review*, 25, 113-165.

C

-
- Cabrol, J., Winkler, G., & Tremblay, R. (2015). Physiological condition and differential feeding behaviour in the cryptic species complex *Eurytemora affinis* in the St Lawrence estuary. *Journal of Plankton Research*, 37(2), 372-387. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbu111>

- 
- Calisi, R. M., & Bentley, G. E. (2009). Lab and field experiments: Are they the same animal? *Hormones and Behavior*, 56(1), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2009.02.010>
- Carroll, A. G., Przeslawski, R., Duncan, A., Gunning, M., & Bruce, B. (2017). A critical review of the potential impacts of marine seismic surveys on fish & invertebrates. *Marine Pollution Bulletin*, 114(1), 9-24. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.11.038>
- Carstensen, J., Henriksen, O., & Teilmann, J. (2006). Impacts of offshore wind farm construction on harbour porpoises: Acoustic monitoring of echolocation activity using porpoise detectors (T-PODs). *Marine Ecology Progress Series*, 321, 295-308. <https://doi.org/10.3354/meps321295>
- Celi, M., Filiciotto, F., Vazzana, M., Arizza, V., Maccarrone, V., Ceraulo, M., Mazzola, S., & Buscaino, G. (2015). Shipping noise affecting immune responses of European spiny lobster (*Palinurus elephas*). *Canadian Journal of Zoology*, 93(2), 113-121. <https://doi.org/10.1139/cjz-2014-0219>
- Chapman, N. R., & Price, A. (2011). Low frequency deep ocean ambient noise trend in the Northeast Pacific Ocean. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 129(5), 161-165. <https://doi.org/10.1121/1.3567084>
- Charifi, M. (2018). *Etude de l'impact de la pollution sonore chez un invertébré marin, l'huître Magallana gigas: Approches écophysiological, écotoxicologique et éthologique au laboratoire et sur le terrain* [PhD Thesis, Université de Bordeaux]. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01905383>
- Charifi, M., Miserazzi, A., Sow, M., Perrigault, M., Gonzalez, P., Ciret, P., Benomar, S., & Massabuau, J.-C. (2018). Noise pollution limits metal bioaccumulation and growth rate in a filter feeder, the Pacific oyster *Magallana gigas*. *PLoS ONE*, 13(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194174>
- Charifi, M., Sow, M., Ciret, P., Benomar, S., & Massabuau, J.-C. (2017). The sense of hearing in the Pacific oyster, *Magallana gigas*. *PLOS ONE*, 12(10), 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185353>
- Chauvaud, S., Chauvaud, L., & Jolivet, A. (2018). *Impact des sons anthropiques sur la faune marine* (Editions Quae).
- Cherkasov, A. A., Overton, R. A., Sokolov, E. P., & Sokolova, I. M. (2007). Temperature-dependent effects of cadmium and purine nucleotides on mitochondrial aconitase from a marine ectotherm, *Crassostrea virginica*: A role of temperature in oxidative stress and allosteric enzyme regulation. *The Journal of Experimental Biology*, 210, 46-55. <https://doi.org/10.1242/jeb.02589>
- Choi, C. H., Scardino, A. J., Dylejko, P. G., Fletcher, L. E., & Juniper, R. (2013). The effect of vibration frequency and amplitude on biofouling deterrence. *Biofouling*, 29(2), 195-202. <https://doi.org/10.1080/08927014.2012.760125>



- Clarke, K. R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Austral Ecology*, 18(1), 117-143. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.1993.tb00438.x>
- Cole, H. A. (1938). The Fate of the Larval Organs in the Metamorphosis of *Ostrea Edulis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 22(2), 469-484. <https://doi.org/10.1017/S0025315400012376>
- Comeau, L. A., Pernet, F., Tremblay, R., Bates, S. S., & LeBlanc, A. (2008). *Comparison of eastern oyster (Crassostrea virginica) and blue mussel (Mytilus edulis) filtration rates at low temperatures* (N° 2810; Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci., p. 17).
- Coquereau, L., Jolivet, A., Hégaret, H., & Chauvaud, L. (2016). Short-Term Behavioural Responses of the Great Scallop *Pecten maximus* Exposed to the Toxic Alga *Alexandrium minutum* Measured by Accelerometry and Passive Acoustics. *PLOS ONE*, 11(8), e0160935. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160935>
- Cox, B. S., Dux, A. M., Quist, M. C., & Guy, C. S. (2012). Use of a Seismic Air Gun to Reduce Survival of Nonnative Lake Trout Embryos: A Tool for Conservation? *North American Journal of Fisheries Management*, 32(2), 292-298. <https://doi.org/10.1080/02755947.2012.675960>
- Cox, E. F., & Ward, S. (2002). Impact of elevated ammonium on reproduction in two Hawaiian scleractinian corals with different life history patterns. *Marine Pollution Bulletin*, 44(11), 1230-1235. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(02\)00213-8](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(02)00213-8)
- Cox, T. M., Ragen, T. J., Read, A. J., Vos, E., Baird, R. W., Balcomb, K., Barlow, J., Caldwell, J., Cranford, T., Crum, L., D'Amico, A., D'Spain, G., Fernandez, A., Finneran, J. J., Gentry, R. L., Gerth, W., Gulland, F., Hildebrand, J. A., Houser, D., ... Benner, L. (2006). Understanding the impacts of anthropogenic sound on beaked whales. *Journal of Cetacean Research and Management*, 7(3), 177-187.
- Cragg, S. M., & Nott, J. A. (1997). *The ultrastructure of the statocysts in pediveliger larvae of Pecten maximus (L.) (Bivalvia)*. 27, 23-36.
- Crisp, D. J., & Barnes, H. (1954). The Orientation and Distribution of Barnacles at Settlement with Particular Reference to Surface Contour. *The Journal of Animal Ecology*, 23(1), 142. <https://doi.org/10.2307/1664>
- Croll, D. A., Clark, C. W., Acevedo, A., Tershy, B., Flores, S., Gedamke, J., & Urban, J. (2002). Only male fin whales sing loud songs. *Nature*, 417, 809-809. <https://doi.org/10.1038/417809a>
- Culliney, J. L. (1974). Larval development of the giant scallop *Placopecten Magellanicus* (Gmelin). *The Biological Bulletin*, 147(2), 321-332. <https://doi.org/10.2307/1540452>

D

- Dahl, P. H., de Jong, C., & Popper, A. N. (2015). The Underwater Sound Field from Impact Pile Driving and Its Potential Effects on Marine Life. *Acoustics Today*, 11(2), 18-25.
- Dalton, T. P., Shertzer, H. G., & Puga, A. (1999). Regulation of gene expression by reactive oxygen. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 39(1), 67-101. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.39.1.67>
- Dame, R. F., & Olenin, S. (Éds.). (2005). *The Comparative Roles of Suspension-Feeders in Ecosystems* (Vol. 47). Springer. <https://doi.org/10.1007/1-4020-3030-4>
- Day, R. D., McCauley, R. D., Fitzgibbon, Q. P., Hartmann, K., & Semmens, J. M. (2017). Exposure to seismic air gun signals causes physiological harm and alters behavior in the scallop *Pecten fumatus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(40), E8537-E8546. <https://doi.org/10.1073/pnas.1700564114>
- Day, R. D., McCauley, R. D., Fitzgibbon, Q. P., & Semmens, J. M. (2016). Seismic air gun exposure during early-stage embryonic development does not negatively affect spiny lobster *Jasus edwardsii* larvae (Decapoda: Palinuridae). *Scientific Reports*, 6(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/srep22723>
- Delaunay, F., Marty, Y., Moal, J., & Samain, J.-F. (1992). Growth and lipid class composition of *Pecten maximus* (L.) larvae grown under hatchery conditions. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 163(2), 209-219. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(92\)90050-K](https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90050-K)
- Delaunay, F., Marty, Y., Moal, J., & Samain, J.-F. (1993). The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) larvae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 173(2), 163-179. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(93\)90051-O](https://doi.org/10.1016/0022-0981(93)90051-O)
- Devauchelle, N., & Mingant, C. (1991). Review of the reproductive physiology of the scallop, *Pecten maximus*, applicable to intensive aquaculture. *Aquatic Living Resources*, 4(1), 41-51. <https://doi.org/10.1051/alr:1991004>
- Devillers, J. (2017). *De la cellule à l'organisme: Prise en compte des changements d'échelles en modélisation QSAR. Dans Les effets écotoxicologiques, de la molécule à la population.*
- Di Iorio, L., Gervaise, C., Jaud, V., Robson, A. A., & Chauvaud, L. (2012). Hydrophone detects cracking sounds: Non-intrusive monitoring of bivalve movement. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 432-433, 9-16. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.07.010>
- Dibattista, J. D., Feldheim, K. A., Gruber, S. H., & Hendry, A. P. (2007). When bigger is not better: Selection against large size, high condition and fast growth in juvenile



lemon sharks. *Journal of Evolutionary Biology*, 20(1), 201-212.
<https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2006.01210.x>

Directive 2014/52/UE du Parlement européen et du conseil concernant l'évaluation des incidences de certains projets publics et privés sur l'environnement, 2014/52/UE 18 (2014).

Dobretsov, S., & Wahl, M. (2008). Larval recruitment of the blue mussel *Mytilus edulis* : The effect of flow and algae. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 355(2), 137-144. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.12.018>

Doksæter, L., Rune Godø, O., Olav Handegard, N., Kvadsheim, P. H., Lam, F.-P. A., Donovan, C., & Miller, P. J. O. (2009). Behavioral responses of herring (*Clupea harengus*) to 1–2 and 6–7 kHz sonar signals and killer whale feeding sounds. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 125(1), 554-564. <https://doi.org/10.1121/1.3021301>

Dorange, G., & Pennec, M. L. (1989). Ultrastructural study of oogenesis and oocytic degeneration in *Pecten maximus* from the Bay of St. Briec. *Marine Biology*, 103, 339-348.

Duarte, C. M., Chapuis, L., Collin, S. P., Costa, D. P., Devassy, R. P., Eguiluz, V. M., Erbe, C., Gordon, T. A. C., Halpern, B. S., Harding, H. R., Havlik, M. N., Meekan, M., Merchant, N. D., Miksis-Olds, J. L., Parsons, M., Predragovic, M., Radford, A. N., Radford, C. A., Simpson, S. D., ... Juanes, F. (2021). The soundscape of the Anthropocene ocean. *Science*, 371(583), 1-10. <https://doi.org/10.1126/science.aba4658>


Dubrovskiy, N. A., & Kosterin, S. V. (1993). Noise in the Ocean Caused by Lightning Strokes. In B. R. Kerman (Éd.), *Natural Physical Sources of Underwater Sound: Sea Surface Sound* (2) (p. 697-709). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1626-8_52

Duncan, A. J., Lucke, K., Erbe, C., & McCauley, R. D. (2016). *Issues associated with sound exposure experiments in tanks*. 27. <https://doi.org/10.1121/2.0000280>

Dunham, A., Pegg, J. R., Carolsfeld, W., Davies, S., Murfitt, I., & Boutillier, J. (2015). Effects of submarine power transmission cables on a glass sponge reef and associated megafaunal community. *Marine Environmental Research*, 107, 50-60. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.04.003>

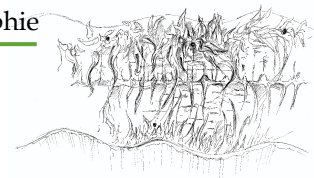
Dupont, L. (2004). *Invasion des côtes françaises par le mollusque exotique *Crepidula fornicata*: Contribution de la dispersion larvaire et du système de reproduction au succès de la colonisation*. 254.

E

- 
- Eggleston, D. B., Lillis, A., & Bohnenstiehl, D. R. (2016). Soundscapes and Larval Settlement: Larval Bivalve Responses to Habitat-Associated Underwater Sounds. In A. N. Popper & A. Hawkins (Éds.), *The Effects of Noise on Aquatic Life II* (Vol. 875, p. 255-263). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2981-8_30
- Elmer, K.-H., Gerasch, W.-J., Neumann, T., Gabriel, J., Betke, K., & Schultz-von Glahn, M. (2007). Measurement and Reduction of Offshore Wind Turbine Construction Noise. *DEWI Magazin*, 30(February), 33-38.
- Emeana, C. J., Hughes, T. J., Dix, J. K., Gernon, T. M., Henstock, T. J., Thompson, C. E. L., & Pilgrim, J. A. (2016). The thermal regime around buried submarine high-voltage cables. *Geophysical Journal International*, 206(2), 1051-1064. <https://doi.org/10.1093/gji/ggw195>
- Erbe, C. (2010). The marine soundscape and the effects of noise on aquatic mammals. *JASCO Applied Sciences*, 38(3), 20-21.
- Erbe, C. (2011). Noise and the Effects on Marine Mammals. *Jasco Applied Sciences*.
- Erbe, C., Marley, S. A., Schoeman, R. P., Smith, J. N., Trigg, L. E., & Embling, C. B. (2019). The Effects of Ship Noise on Marine Mammals: A Review. *Frontiers in Marine Science*, 6, 606. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00606>
- Erbe, C., Reichmuth, C., Cunningham, K., Lucke, K., & Dooling, R. (2016). Communication masking in marine mammals: A review and research strategy. *Marine Pollution Bulletin*, 103(1-2), 15-38. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.12.007>
- Everest, F. A., Young, R. W., & Johnson, M. W. (1947). Acoustical Characteristics of Noise Produced by Snapping Shrimp. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 19(726). <https://doi.org/doi:10.1121/1.1916566>

F

- Fay, R. R., & Popper, A. N. (1974). Acoustic stimulation of the ear of the Goldfish (*Carassius Auratus*). *Journal of Experimental Biology*, 61, 243-260.
- Fewtrell, J. L., & McCauley, R. D. (2012). Impact of air gun noise on the behaviour of marine fish and squid. *Marine Pollution Bulletin*, 64(5), 984-993. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.02.009>
- Fields, D. M., Handegard, N. O., Dalen, J., Eichner, C., Malde, K., Karlsen, Ø., Skiftesvik, A. B., Durif, C. M. F., & Browman, H. I. (2019). Airgun blasts used in marine seismic surveys have limited effects on mortality, and no sublethal effects on behaviour or gene expression, in the copepod *Calanus finmarchicus*. *ICES Journal of Marine Science*, 76(7), 2033-2044. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsz126>



- Filiciotto, F., Vazzana, M., Celi, M., Maccarrone, V., Ceraulo, M., Buffa, G., Stefano, V. D., Mazzola, S., & Buscaino, G. (2014). Behavioural and biochemical stress responses of *Palinurus elephas* after exposure to boat noise pollution in tank. *Marine Pollution Bulletin*, *84*(1), 104-114.
<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.05.029>
- Finneran, J. J., Schlundt, C. E., Dear, R., Carder, D. A., & Ridgway, S. H. (2002). Temporary shift in masked hearing thresholds in odontocetes after exposure to single underwater impulses from a seismic watergun. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *111*(6), 2929-2940.
<https://doi.org/10.1121/1.1479150>
- Fissel, D. B., & Jiang, J. (2011). Three-dimensional numerical modeling of sediment transport for coastal engineering projects in British Columbia, Canada. *OCEANS'11 MTS/IEEE KONA*, 1-9.
<https://doi.org/10.23919/OCEANS.2011.6107295>
- Folch, J., Lees, M., & Sloane-Stanlez, G. H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of B*, *226*, 497-509.
- Forêt, M., Barbier, P., Tremblay, R., Meziane, T., Neumeier, U., Duvieilbourg, E., & Olivier, F. (2018). Trophic cues promote secondary migrations of bivalve recruits in a highly dynamic temperate intertidal system. *Ecosphere*, *9*(12), 1-20.
<https://doi.org/10.1002/ecs2.2510>
- Forêt, M., Olivier, F., Miner, P., Winkler, G., Nadalini, J., & Tremblay, R. (2020). Influence of the physiological condition of bivalve recruits on their post-settlement dispersal potential. *Marine Ecology Progress Series*, *636*, 77-89.
<https://doi.org/10.3354/meps13223>
- Franz, G. J. (1959). Splashes as Sources of Sound in Liquids. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *31*(8), 1080-1096.
<https://doi.org/10.1121/1.1907831>
- Freeman, S. E., Freeman, L. A., Giorli, G., & Haas, A. F. (2018). Photosynthesis by marine algae produces sound, contributing to the daytime soundscape on coral reefs. *PLOS ONE*, *13*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201766>
- Frechet, F., Tremblay, R., & Flores, A. (2015). Interacting environmental stressors modulate reproductive output and larval performance in a tropical intertidal barnacle. *Marine Ecology Progress Series*, *532*, 161-175.
<https://doi.org/10.3354/meps11377>
- Frisk, G. V. (2012). Noiseconomics: The relationship between ambient noise levels in the sea and global economic trends. *Scientific Reports*, *2*(1), 437.
<https://doi.org/10.1038/srep00437>
- Fu, Y., Kabir, I. I., Yeoh, G. H., & Peng, Z. (2021). A review on polymer-based materials for underwater sound absorption. *Polymer Testing*, *96*.
<https://doi.org/10.1016/j.polymertesting.2021.107115>



Fuchs, H. L., & Reidenbach, M. A. (2013). Biophysical Constraints on Optimal Patch Lengths for Settlement of a Reef-Building Bivalve. *PLoS ONE*, 8(8), e71506. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071506>

G

Gagné, R., Tremblay, R., Pernet, F., Miner, P., Samain, J.-F., & Olivier, F. (2010). Lipid requirements of the scallop *Pecten maximus* (L.) during larval and post-larval development in relation to addition of *Rhodomonas salina* in diet. *Aquaculture*, 309(1-4), 212-221. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.09.040>

Gallager, S. M., Mann, R., & Sasaki, G. C. (1986). Lipid as an index of growth and viability in three species of bivalve larvae. *Aquaculture*, 56(2), 81-103. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(86\)90020-7](https://doi.org/10.1016/0044-8486(86)90020-7)

Galley, T. H., Beaumont, A. R., Le Vay, L., & King, J. W. (2017). Influence of exogenous chemicals on larval development and survival of the king scallop *Pecten maximus* (L.). *Aquaculture*, 474, 48-56. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.03.035>

Garbutt, J. S., & Little, T. J. (2017). Bigger is better: Changes in body size explain a maternal effect of food on offspring disease resistance. *Ecology and Evolution*, 7(5), 1403-1409. <https://doi.org/10.1002/ece3.2709>

Gebauer, P., Paschke, K., & Anger, K. (2003). Delayed metamorphosis in decapod crustaceans: Evidence and consequences. *Revista Chilena de Historia Natural*, 76(2). <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2003000200004>

Genard, B., Pernet, F., Lemarchand, K., Boudry, P., Moraga, D., & Tremblay, R. (2011). Physiological and biochemical changes associated with massive mortality events occurring in larvae of American oyster (*Crassostrea virginica*). *Aquatic Living Resources*, 24(3), 247-260. <https://doi.org/10.1051/alr/2011114>

General Assembly of the United Nations 60th session, World Summit outcomes (U.N. GAOR, 60th).


Gibson, G. (1995). Why be choosy? Temporal changes in larval sensitivity to several naturally-occurring metamorphic inducers in the opisthobranch *Haminaea callidegenita*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 194(1), 9-24. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(95\)00075-5](https://doi.org/10.1016/0022-0981(95)00075-5)

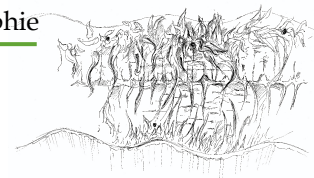
Giese, A. C. (1959). Comparative Physiology: Annual Reproductive Cycles of Marine Invertebrates. *Annual Review of Physiology*, 21(1), 547-576. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.21.030159.002555>

Gill, A. B. (2005). Offshore renewable energy: Ecological implications of generating electricity in the coastal zone: Ecology and offshore renewable energy. *Journal of Applied Ecology*, 42(4), 605-615. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01060.x>



- Gimenez, L. (2006). Phenotypic links in complex life cycles: Conclusions from studies with decapod crustaceans. *Integrative and Comparative Biology*, 46(5), 615-622. <https://doi.org/10.1093/icb/icl010>
- Glasby, T. M., Connell, S. D., Holloway, M. G., & Hewitt, C. L. (2007). Nonindigenous biota on artificial structure: Could habitat creation facilitate biological invasions? *Marine Biology*, 151(3), 887-895. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0552-5>
- Glencross, B. D. (2009). Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Reviews in Aquaculture*, 1(2), 71-124. <https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2009.01006.x>
- Gray, M., Rogers, P. H., & Zeddies, D. G. (2016). *Acoustic particle motion measurement for bioacousticians: Principles and pitfalls*. Fourth International Conference on the Effects of Noise on Aquatic Life, Dublin, Ireland. <https://doi.org/10.1121/2.0000290>
- Greene, C. R. (1987). Characteristics of oil industry dredge and drilling sounds in the Beaufort Sea. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 82(4), 1315-1324. <https://doi.org/10.1121/1.395265>
- Gribben, P. E., Marshall, D. J., & Steinberg, P. D. (2006). Less inhibited with age? Larval age modifies responses to natural settlement inhibitors. *Biofouling*, 22(2), 101-106. <https://doi.org/10.1080/08927010600562583>
- Gruffydd, Ll. D., & Beaumont, A. R. (1972). A method for rearing *Pecten maximus* larvae in the laboratory. *Marine Biology*, 15(4), 350-355. <https://doi.org/10.1007/BF00401395>
- Guerra, Á., González, Á. F., Pascual, S., & Dawe, E. G. (2011). The giant squid *Architeuthis*: An emblematic invertebrate that can represent concern for the conservation of marine biodiversity. *Biological Conservation*, 144(7), 1989-1997. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2011.04.021>
- Guide de préconisation pour limiter l'impact des bruits sous-marins sur la faune marine.* (2020). Ministère de la Transition Ecologique et Solidaire.
- Gunther, C.-P. (1992). Dispersal of intertidal invertebrates: A strategy to react to disturbances of different scales? *Netherlands Journal of Sea Research*, 30, 45-56. [https://doi.org/10.1016/0077-7579\(92\)90044-F](https://doi.org/10.1016/0077-7579(92)90044-F)
- Guo, S., Lee, H. P., Teo, S. L. M., & Khoo, B. C. (2012). Inhibition of barnacle cyprid settlement using low frequency and intensity ultrasound. *Biofouling*, 28(2), 131-141. <https://doi.org/10.1080/08927014.2012.658511>

- 
- Hadfield, M. G. (2011). Biofilms and Marine Invertebrate Larvae: What Bacteria Produce That Larvae Use to Choose Settlement Sites. *Annual Review of Marine Science*, 3(1), 453-470. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120709-142753>
- Hadfield, M. G., Carpizo-Ituarte, E. J., Carmen, K. D., & Nedved, B. T. (2001). Metamorphic Competence, a Major Adaptive Convergence in Marine Invertebrate Larvae. *American Zoologist*, 41, 1123-1131.
- Hammar, L., Wikström, A., & Molander, S. (2014). Assessing ecological risks of offshore wind power on Kattegat cod. *Renewable Energy*, 66, 414-424. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2013.12.024>
- Handegard, N. (2003). Avoidance behaviour in cod (*Gadus morhua*) to a bottom-trawling vessel. *Aquatic Living Resources*, 16(3), 265-270. [https://doi.org/10.1016/S0990-7440\(03\)00020-2](https://doi.org/10.1016/S0990-7440(03)00020-2)
- Hannam, M. L., Bamber, S. D., Galloway, T. S., John Moody, A., & Jones, M. B. (2010). Functional immune response in *Pecten maximus*: Combined effects of a pathogen-associated molecular pattern and PAH exposure. *Fish & Shellfish Immunology*, 28(1), 249-252. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2009.10.018>
- Harvey, M., Bourget, E., & Miron, G. (1993). Settlement of Iceland scallop *Chlamys islandica* spat in response to hydroids and filamentous red algae: Field observations and laboratory experiments. *Marine Ecology Progress Series*, 99, 283-292. <https://doi.org/10.3354/meps099283>
- Hawkins, A. D., Hazelwood, R. A., Popper, A. N., & Macey, P. C. (2021). Substrate vibrations and their potential effects upon fishes and invertebrates. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 149(4), 2782-2790. <https://doi.org/10.1121/10.0004773>
- Hawkins, A. D., Johnson, C., & Popper, A. N. (2020). How to set sound exposure criteria for fishes. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 147(3), 1762-1777. <https://doi.org/10.1121/10.0000907>
- Hawkins, A. D., & Popper, A. N. (2017). A sound approach to assessing the impact of underwater noise on marine fishes and invertebrates. *ICES Journal of Marine Science*, 74(3), 635-651. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fsw205>
- Hawkins, A. D., & Popper, A. N. (2018). Effects of Man-Made Sound on Fishes. In H. Slabbekoorn, R. J. Dooling, A. N. Popper, & R. R. Fay (Éds.), *Effects of Anthropogenic Noise on Animals* (Vol. 66, p. 145-177). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8574-6_6
- Helm, M., & Bourne, N. (2006). *Hatchery culture of bivalves: A practical manual (Technical document)*. FAO, Organisation de nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome. <http://www.fao.org/3/y5720e/y5720e00.htm>
- Hildebrand, J. (2009). Anthropogenic and natural sources of ambient noise in the ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 395, 5-20. <https://doi.org/10.3354/meps08353>



- Hildebrand, J. A., Frasier, K. E., Baumann-Pickering, S., & Wiggins, S. M. (2021). An empirical model for wind-generated ocean noise. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *149*(6), 4516-4533. <https://doi.org/10.1121/10.0005430>
- Holbach, M., Robert, R., Boudry, P., Petton, B., Archambault, P., & Tremblay, R. (2015). Scallop larval survival from erythromycin treated broodstock after conditioning without sediment. *Aquaculture*, *437*, 312-317. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.12.003>
- Holland, D. L., & Spencer, B. E. (1973). Biochemical Changes in Fed and Starved Oysters, *Ostrea Edulis* L. During Larval Development, Metamorphosis and Early Spat Growth. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, *53*(2), 287-298. <https://doi.org/10.1017/S002531540002227X>
- Hooper, T., & Austen, M. (2014). The co-location of offshore windfarms and decapod fisheries in the UK: Constraints and opportunities. *Marine Policy*, *43*, 295-300. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2013.06.011>
- Hu, M. Y., Yan, H. Y., Chung, W.-S., Shiao, J.-C., & Hwang, P.-P. (2009). Acoustically evoked potentials in two cephalopods inferred using the auditory brainstem response (ABR) approach. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *153*(3), 278-283. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.040>
- Hubert, J., Booms, E., Witbaard, R., & Slabbekoorn, H. (2022). Responsiveness and habituation to repeated sound exposures and pulse trains in blue mussels. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *547*. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2021.151668>
- Hudon, C., & Bourget, E. (1981). Initial Colonization of Artificial Substrate: Community Development and Structure Studied by Scanning Electron Microscopy. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, *38*(11), 1371-1384. <https://doi.org/10.1139/f81-184>
- Hughes, T. J., Henstock, T. J., Pilgrim, J. A., Dix, J. K., Gernon, T. M., & Thompson, C. E. L. (2015). Effect of Sediment Properties on the Thermal Performance of Submarine HV Cables. *IEEE Transactions on Power Delivery*, *30*(6), 2443-2450. <https://doi.org/10.1109/TPWRD.2015.2398351>
- Hulbert, A. J., Pamplona, R., Buffenstein, R., & Buttemer, W. A. (2007). Life and Death : Metabolic Rate, Membrane Composition, and Life Span of Animals. *Physiological Reviews*, *87*(4), 1175-1213. <https://doi.org/10.1152/physrev.00047.2006>
- Hunt, H., & Scheibling, R. (1997). Role of early post-settlement mortality in recruitment of benthic marine invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, *155*, 269-301. <https://doi.org/10.3354/meps155269>



Hurlbert, S. H. (1984). Pseudoreplication and the Design of Ecological Field Experiments. *Ecological Monographs*, 54(2), 187-211. <https://doi.org/10.2307/1942661>

I

IMO MEPC.1/Circ.833: Guidelines for the Reduction of Underwater Noise from Commercial Shipping to Address Adverse Impacts on Marine Life. (2014). ASCOBANS.

Isojunno, S., Curé, C., Kvadsheim, P. H., Lam, F.-P. A., Tyack, P. L., Wensveen, P. J., & Miller, P. J. O. (2016). Sperm whales reduce foraging effort during exposure to 1-2 kHz sonar and killer whale sounds. *Ecological Applications*, 26(1), 77-93. <https://doi.org/10.1890/15-0040>

Iversen, R. T. S., Perkins, P. J., & Dionne, R. D. (1963). An indication of underwater sound production by a squid. *Nature*, 199, 250-251.

J

Jain-Schlaepfer, S., Fakan, E., Rummer, J. L., Simpson, S. D., & McCormick, M. I. (2018). Impact of motorboats on fish embryos depends on engine type. *Conservation Physiology*, 6(1). <https://doi.org/10.1093/conphys/coy014>

Janse, C. (1982). The Function of the Statocyst Sensory Cells in *Aplysia limacina*. *Journal of Comparative Physiology*, 150, 359-370.

Jenkins, S. R., Marshall, D., & Frascchetti, S. (2009). Settlement and Recruitment. In M. Wahl (Éd.), *Marine Hard Bottom Communities* (Vol. 206, p. 177-190). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/b76710_12

Jézéquel, Y., Bonnel, J., Coston-Guarini, J., & Chauvaud, L. (2019). Revisiting the bioacoustics of European spiny lobsters *Palinurus elephas*: Comparison of antennal rasps in tanks and in situ. *Marine Ecology Progress Series*, 615, 143-157. <https://doi.org/10.3354/meps12935>

Jézéquel, Y., Bonnel, J., Coston-Guarini, J., Guarini, J., & Chauvaud, L. (2018). Sound characterization of the European lobster *Homarus gammarus* in tanks. *Aquatic Biology*, 27, 13-23. <https://doi.org/10.3354/ab00692>

Jézéquel, Y., Coston-Guarini, J., Chauvaud, L., & Bonnel, J. (2020). Acoustic behaviour of male European lobsters (*Homarus gammarus*) during agonistic encounters. *Journal of Experimental Biology*. <https://doi.org/10.1242/jeb.211276>



- Jézéquel, Y., Jones, I. T., Bonnel, J., Chauvaud, L., Atema, J., & Mooney, T. A. (2021). Sound detection by the American lobster (*Homarus americanus*). *Journal of Experimental Biology*, 224(6), jeb240747. <https://doi.org/10.1242/jeb.240747>
- Jimenez-Arranz, G., Hedgeland, D., Cook, S., Banda, N., Johnston, P., & Oliver, E. (2019). Acoustic characterisation of a mobile offshore drilling unit. *Proceedings of Meetings on Acoustics*, 37(1). <https://doi.org/10.1121/2.0001193>
- Jolivet, A., Tremblay, R., Olivier, F., Gervaise, C., Sonier, R., Genard, B., & Chauvaud, Laurent. (2016). Validation of trophic and anthropic underwater noise as settlement trigger in blue mussels. *Scientific Reports*, 6(1), 1-8. <https://doi.org/10.1038/srep33829>
- Jones, C. G., Lawton, J. H., & Shachak, M. (1997). Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers. *Ecology*, 78(7), 12.
- Jones, I. T., Peyla, J. F., Clark, H., Song, Z., Stanley, J. A., & Mooney, T. A. (2021). Changes in feeding behavior of longfin squid (*Doryteuthis pealeii*) during laboratory exposure to pile driving noise. *Marine Environmental Research*, 165. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2020.105250>
- Jones, I. T., Stanley, J. A., Bonnel, J., & Mooney, T. A. (2019). Complexities of tank acoustics warrant direct, careful measurement of particle motion and pressure for bioacoustic studies. 010005. <https://doi.org/10.1121/2.0001073>
- Jones, I. T., Stanley, J. A., & Mooney, T. A. (2020). Impulsive pile driving noise elicits alarm responses in squid (*Doryteuthis pealeii*). *Marine Pollution Bulletin*, 150, 110792. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110792>

K

- Kaifu, K., Akamatsu, T., & Segawa, S. (2008). Underwater sound detection by cephalopod statocyst. *Fisheries Science*, 74, 781-786. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2008.01589.x>
- Kastelein, R. A. (2008). Effects of vibrations on the behaviour of cockles (bivalve molluscs). *Bioacoustics*, 17(1-3), 74-75. <https://doi.org/10.1080/09524622.2008.9753770>
- Kasten, P., Jenkins, S. R., Tremblay, R., & Flores, A. A. V. (2019). Evidence for enhanced late-stage larval quality, not survival, through maternal carry-over effects in a space monopolizing barnacle. *Hydrobiologia*, 830(1), 277-286. <https://doi.org/10.1007/s10750-018-3877-4>
- Kesarcodi-Watson, A., Miner, P., Nicolas, J.-L., & Robert, R. (2012). Protective effect of four potential probiotics against pathogen-challenge of the larvae of three bivalves: Pacific oyster (*Crassostrea gigas*), flat oyster (*Ostrea edulis*) and

scallop (*Pecten maximus*). *Aquaculture*, 344-349, 29-34.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.029>

Ketten, D. R. (1992). The Marine Mammal Ear: Specializations for Aquatic Audition and Echolocation. In D. B. Webster, A. N. Popper, & R. R. Fay (Éds.), *The Evolutionary Biology of Hearing* (p. 717-750). Springer New York.
https://doi.org/10.1007/978-1-4612-2784-7_44

Kinda, G. B., Simard, Y., Gervaise, C., Mars, J. I., & Fortier, L. (2013). Under-ice ambient noise in Eastern Beaufort Sea, Canadian Arctic, and its relation to environmental forcing. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 134(1), 77-87. <https://doi.org/10.1121/1.4808330>

Kleiner, M., & Tichy, J. (2014). *Acoustics of small rooms*. CRC Press.

Klimley, A. P. (1993). Highly directional swimming by scalloped hammerhead sharks, *Sphyrna lewini*, and subsurface irradiance, temperature, bathymetry, and geomagnetic field. *Marine Biology*, 117(1), 1-22.
<https://doi.org/10.1007/BF00346421>

Knight-Jones, E. (1951). Gregariousness and some other aspects of the setting behaviour of *Spirorbis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 30(2), 201-222.

Knowlton, R. E., & Moulton, J. M. (1963). Sound production in the snapping shrimps *Alpheus* (Crangon) and *Synalpheus*. *The Biological Bulletin*, 125(2), 311-331.
<https://doi.org/10.2307/1539406>

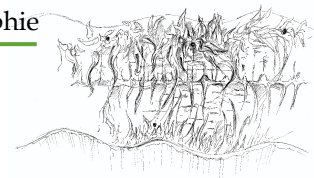
Kobak, J. (2005). Recruitment and distribution of *Dreissena polymorpha* (Bivalvia) on substrates of different shape and orientation. *International Review of Hydrobiology*, 90(2), 159-170. <https://doi.org/10.1002/iroh.200410756>

Kogan, I., Paull, C. K., Kuhnz, L. A., Burton, E. J., Von Thun, S., Gary Greene, H., & Barry, J. P. (2006). ATOC/Pioneer Seamount cable after 8 years on the seafloor : Observations, environmental impact. *Continental Shelf Research*, 26(6), 771-787.
<https://doi.org/10.1016/j.csr.2006.01.010>

Komak, S., Boal, J. G., Dickel, L., & Budelmann, B. U. (2005). Behavioural responses of juvenile cuttlefish (*Sepia officinalis*) to local water movements. *Marine & Freshwater Behaviour & Physiology*, 38(2), 117-125.
<https://doi.org/10.1080/10236240500139206>

Koschinski, S., & Ludemann, K. (2013). *Development of Noise Mitigation Measures in Offshore Wind Farm Construction* (p. 102). Federal Agency for Nature Conservation.

Krone, R., Dederer, G., Kanstinger, P., Krämer, P., Schneider, C., & Schmalenbach, I. (2017). Mobile demersal megafauna at common offshore wind turbine foundations in the German Bight (North Sea) two years after deployment—



Increased production rate of *Cancer pagurus*. *Marine Environmental Research*, 123, 53-61. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.11.011>

Kunc, H. P., Lyons, G. N., Sigwart, J. D., McLaughlin, K. E., & Houghton, J. D. R. (2014). Anthropogenic Noise Affects Behavior across Sensory Modalities. *The American Naturalist*, 184(4), E93-E100. <https://doi.org/10.1086/677545>

Kyhn, L. A., Sveegaard, S., & Tougaard, J. (2014). Underwater noise emissions from a drillship in the Arctic. *Marine Pollution Bulletin*, 86(1-2), 424-433. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.06.037>

L

Lacourse, J. R., & Northrop, R. B. (1978). A preliminary study of the mechanoreceptors within the anterior byssus retractor of *Mytilus edulis*. *The Biological Bulletin*, 155(1), 161-168. <https://doi.org/10.2307/1540873>

Lagarde, F., Richard, M., Bec, B., Roques, C., Mortreux, S., Bernard, I., Chiantella, C., Messiaen, G., Nadalini, J., Hori, M., Hamaguchi, M., Pouvreau, S., Roque d'Orbcastel, E., & Tremblay, R. (2018). Trophic environments influence size at metamorphosis and recruitment performance of Pacific oysters. *Marine Ecology Progress Series*, 602, 135-153. <https://doi.org/10.3354/meps12666>


Lagardère, J. P. (1982). Effects of noise on growth and reproduction of *Crangon crangon* in rearing tanks. *Marine Biology*, 71(2), 177-185. <https://doi.org/10.1007/BF00394627>

Langdon, C. J., & Waldock, M. J. (1981). The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* Spat. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 61(2), 431-448. <https://doi.org/10.1017/S0025315400047056>

Langhamer, O. (2012). Artificial Reef Effect in relation to Offshore Renewable Energy Conversio : State of the Art. *The Scientific World Journal*, 2012, 1-8. <https://doi.org/10.1100/2012/386713>

Lannig, G., Flores, J. F., & Sokolova, I. M. (2006). Temperature-dependent stress response in oysters, *Crassostrea virginica*: Pollution reduces temperature tolerance in oysters. *Aquatic Toxicology*, 79(3), 278-287. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.06.017>

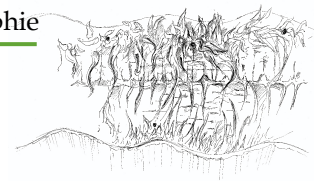
Lavaud, R., Flye-Sainte-Marie, J., Jean, F., Emmery, A., Strand, Ø., & Kooijman, S. A. L. M. (2014). Feeding and energetics of the great scallop, *Pecten maximus*, through a DEB model. *Journal of Sea Research*, 94, 5-18. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2013.10.011>

- 
- Le Tourneux, F., & Bourget, E. (1988). Importance of physical and biological settlement cues used at different spatial scales by the larvae of *Semibalanus balanoides*. *Marine Biology*, 97(1), 57-66. <https://doi.org/10.1007/BF00391245>
- Leal, I., Flores, A. A. V., Archambault, P., Collin, R., & Tremblay, R. (2020). Response of tropical and subtropical chthamalid barnacles to increasing substrate temperatures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 524, 151281. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2019.151281>
- Lecchini, D., Bertucci, F., Gache, C., Khalife, A., Besson, M., Roux, N., Berthe, C., Singh, S., Parmentier, E., Nugues, M. M., Brooker, R. M., Dixson, D. L., & Hédouin, L. (2018). Boat noise prevents soundscape-based habitat selection by coral planulae. *Scientific Reports*, 8(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27674-w>
- Lee, J., & Zhao, F. (2021). *Global Offshore Wind Report*. Global Wind Energy Council. <https://gwec.net/global-offshore-wind-report-2021/>
- Legendre, P., & Legendre, L. (2012). *Numerical Ecology, 3rd English ed.* Elsevier.
- Legg, M., Yücel, M. K., Garcia de Carellan, I., Kappatos, V., Selcuk, C., & Gan, T. H. (2015). Acoustic methods for biofouling control: A review. *Ocean Engineering*, 103, 237-247. <https://doi.org/10.1016/j.oceaneng.2015.04.070>
- Lemaire, N., Pellerin, J., Fournier, M., Girault, L., Tamigneaux, E., Cartier, S., & Pelletier, E. (2006). Seasonal variations of physiological parameters in the blue mussel *mytilus* spp. From farm sites of eastern Quebec. *Aquaculture*, 261(2), 729-751. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.08.017>
- Lepage, G., & Roy, C. C. (1984). Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. *Journal of Lipid Research*, 25(12), 1391-1396. [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)34457-6](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)34457-6)
- Leroy, F., Meziane, T., Riera, P., & Comtet, T. (2013). Seasonal Variations in Maternal Provisioning of *Crepidula fornicata* (Gastropoda): Fatty Acid Composition of Females, Embryos and Larvae. *PLoS ONE*, 8(9), e75316. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0075316>
- Lesage, V., Barrette, C., Kingsley, M. C. S., & Sjare, B. (1999). The effect of vessel noise on the vocal behavior of Bellugas in the St-Lawrence estuary, Canada. *Marine Mammal Science*, 15(1), 65-84. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1999.tb00782.x>
- Leunissen, E. M., & Dawson, S. M. (2018). Underwater noise levels of pile-driving in a New Zealand harbour, and the potential impacts on endangered Hector's dolphins. *Marine Pollution Bulletin*, 135, 195-204. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.07.024>
- Levinton, J. S., Suatoni, E., Wallace, W., Junkins, R., Kelaher, B., & Allen, B. J. (2003). Rapid loss of genetically based resistance to metals after the cleanup of a




- Superfund site. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(17), 9889-9891. <https://doi.org/10.1073/pnas.1731446100>
- Leyton, Y. E., & Riquelme, C. E. (2008). Use of specific bacterial-microbial biofilms for improving the larval settlement of *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) on three types of artificial spat-collecting materials. *Aquaculture*, 276(1-4), 78-82. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.01.037>
- Lillis, A., Bohnenstiehl, D., Peters, J. W., & Eggleston, D. (2016). Variation in habitat soundscape characteristics influences settlement of a reef-building coral. *PeerJ*, 4. <https://doi.org/10.7717/peerj.2557>
- Lillis, A., Bohnenstiehl, D. R., & Eggleston, D. B. (2015). Soundscape manipulation enhances larval recruitment of a reef-building mollusk. *PeerJ*, 3. <https://doi.org/10.7717/peerj.999>
- Lillis, A., Eggleston, D. B., & Bohnenstiehl, D. R. (2013). Oyster Larvae Settle in Response to Habitat-Associated Underwater Sounds. *PLoS ONE*, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079337>
- Lillis, A., Eggleston, D. B., & Bohnenstiehl, D. R. (2014a). Correction: Oyster Larvae Settle in Response to Habitat-Associated Underwater Sounds. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/annotation/b04bc087-808a-4edc-ae2a-08932bff360c>
- Lillis, A., Eggleston, D., & Bohnenstiehl, D. (2014b). Soundscape variation from a larval perspective: The case for habitat-associated sound as a settlement cue for weakly swimming estuarine larvae. *Marine Ecology Progress Series*, 509, 57-70. <https://doi.org/10.3354/meps10917>
- Lindeboom, H. J., Kouwenhoven, H. J., Bergman, M. J. N., Bouma, S., Brasseur, S., Daan, R., Fijn, R. C., de Haan, D., Dirksen, S., van Hal, R., Hille Ris Lambers, R., ter Hofstede, R., Krijgsveld, K. L., Leopold, M., & Scheidat, M. (2011). Short-term ecological effects of an offshore wind farm in the Dutch coastal zone; a compilation. *Environmental Research Letters*, 6(3), 035101. <https://doi.org/10.1088/1748-9326/6/3/035101>
- Lindgarth, M., Valentinsson, D., Hansson, M., & Ulmestrand, M. (2000). Interpreting large-scale experiments on effects of trawling on benthic fauna: An empirical test of the potential effects of spatial confounding in experiments without replicated control and trawled areas. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 245(2), 155-169. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(99\)00158-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(99)00158-6)
- Liu, Z., Li, M., Yi, Q., Wang, L., & Song, L. (2018). The Neuroendocrine-Immune Regulation in Response to Environmental Stress in Marine Bivalves. *Frontiers in Physiology*, 9, 1456. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01456>
- Loosanoff, V. L., & Davis, H. C. (1963). Rearing of Bivalve Mollusks. In *Advances in Marine Biology* (Vol. 1, p. 1-136). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(08\)60257-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(08)60257-6)

- Ma, B. B., Nystuen, J. A., & Lien, R.-C. (2005). Prediction of underwater sound levels from rain and wind. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *117*(6), 3555-3565. <https://doi.org/10.1121/1.1910283>
- Madsen, P. T. (2005). Marine mammals and noise: Problems with root mean square sound pressure levels for transients. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *117*(6), 3952-3957. <https://doi.org/10.1121/1.1921508>
- Malakoff, D. (2010). Changing oceans: A push for quieter ships. *Science*, *328*, 1502-1503. <https://doi.org/doi:10.1126/science.328.5985.1502>
- Marshall, D. J. (2008). Transgenerational plasticity in the sea: Context-dependant maternal effects across the life history. *Ecology*, *89*(2), 418-427. <https://doi.org/10.1890/07-0449.1>
- Marshall, D. J., Bolton, T. F., & Keough, M. J. (2003). Offspring size affects the post-metamorphic performance of a colonial marine invertebrate. *Ecology*, *84*(12), 3131-3137. <https://doi.org/10.1890/02-0311>
- Marshall, D., & Keough, M. (2004). When the going gets rough: Effect of maternal size manipulation on larval quality. *Marine Ecology Progress Series*, *272*, 301-305. <https://doi.org/10.3354/meps272301>
- Marshall, J. D., & Uller, T. (2007). When is a maternal effect adaptive? *Oikos*, *116*(12), 1957-1963. <https://doi.org/10.1111/j.2007.0030-1299.16203.x>
- Martel, A., Hynes, T. M., & Buckland-Nicks, J. (1995). Prodissoconch morphology, planktonic shell growth, and size at metamorphosis in *Dreissena polymorpha*. *Canadian Journal of Zoology*, *73*(10), 1835-1844. <https://doi.org/10.1139/z95-216>
- Martel, A. L., Tremblay, R., Toupoint, N., Olivier, F., & Myrand, B. (2014). Veliger Size at Metamorphosis and Temporal Variability in Prodissoconch II Morphometry in the Blue Mussel (*Mytilus edulis*): Potential Impact on Recruitment. *Journal of Shellfish Research*, *33*(2), 443-455. <https://doi.org/10.2983/035.033.0213>
- Martin, S. B., Morris, C., Bröker, K., & O'Neill, C. (2019). Sound exposure level as a metric for analyzing and managing underwater soundscapes. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *146*(1), 135-149. <https://doi.org/10.1121/1.5113578>
- Marty, Y., Delaunay, F., Moal, J., & Samain, J.-F. (1992). Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, *163*(2), 221-234. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(92\)90051-B](https://doi.org/10.1016/0022-0981(92)90051-B)



- Mathias, D., Gervaise, C., & Di Iorio, L. (2016). Wind dependence of ambient noise in a biologically rich coastal area. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *139*(2), 839-850. <https://doi.org/10.1121/1.4941917>
- Matoo, O. B., Ivanina, A. V., Ullstad, C., Beniash, E., & Sokolova, I. M. (2013). Interactive effects of elevated temperature and CO₂ levels on metabolism and oxidative stress in two common marine bivalves (*Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *164*(4), 545-553. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.12.025>
- Matuschek, R., & Betke, K. (2009). *Measurements of Construction Noise During Pile Driving of Offshore Research Platforms and Wind Farms*. NAG/DAGA 2009.
- McCauley, R. D., Day, R. D., Swadling, K. M., Fitzgibbon, Q. P., Watson, R. A., & Semmens, J. M. (2017). Widely used marine seismic survey air gun operations negatively impact zooplankton. *Nature Ecology & Evolution*, *1*(7), 0195. <https://doi.org/10.1038/s41559-017-0195>
- McDonald, J. I., Wilkens, S. L., Stanley, J. A., & Jeffs, A. G. (2014). Vessel generator noise as a settlement cue for marine biofouling species. *Biofouling*, *30*(6), 741-749. <https://doi.org/10.1080/08927014.2014.919630>
- McDonald, M. A., Hildebrand, J. A., & Wiggins, S. M. (2006). Increases in deep ocean ambient noise in the Northeast Pacific west of San Nicolas Island, California. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *120*(2), 711-718. <https://doi.org/10.1121/1.2216565>
- McKenna, M. F., Katz, S. L., Wiggins, S. M., Ross, D., & Hildebrand, J. A. (2012). A quieting ocean: Unintended consequence of a fluctuating economy. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *132*(3), 169-175. <https://doi.org/10.1121/1.4740225>
- McKindsey, C. W., Archambault, P., Callier, M. D., & Olivier, F. (2011). Influence of suspended and off-bottom mussel culture on the sea bottom and benthic habitats : A review. *Canadian Journal of Zoology*, *89*(7), 622-646. <https://doi.org/10.1139/z11-037>
- Medwin, H., & Clay, C. S. (1998). *Fundamentals of acoustical oceanography*. Academic Press.
- Mellen, R. H. (1952). The Thermal-Noise Limit in the Detection of Underwater Acoustic Signals. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *24*(5), 478-480. <https://doi.org/10.1121/1.1906924>
- Mooney, T. A., Hanlon, R., Madsen, P. T., Christensen-Dalsgaard, J., Ketten, D. R., & Nachtigall, P. E. (2012). Potential for Sound Sensitivity in Cephalopods. In A. N. Popper & A. Hawkins (Éds.), *The Effects of Noise on Aquatic Life* (Vol. 730, p. 125-128). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7311-5_28

- 
- Mooney, T. A., Hanlon, R. T., Christensen-Dalsgaard, J., Madsen, P. T., Ketten, D. R., & Nachtigall, P. E. (2010). Sound detection by the longfin squid (*Loligo pealeii*) studied with auditory evoked potentials: Sensitivity to low-frequency particle motion and not pressure. *Journal of Experimental Biology*, 213(21), 3748-3759. <https://doi.org/10.1242/jeb.048348>
- Mousseau, T. (1998). The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(10), 403-407. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01472-4](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01472-4)
- Mueller, C. A., Eme, J., Burggren, W. W., Roghair, R. D., & Rundle, S. D. (2015). Challenges and opportunities in developmental integrative physiology. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 184, 113-124. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.02.013>

N


- Narvarte, M. A. (2003). Growth and survival of the tehuelche scallop *Aequipecten tehuelchus* in culture. *Aquaculture*, 216, 127-142. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00430-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00430-1)
- National Marine Fisheries Service (NMFS). (2016). *Technical Guidance for Assessing the Effects of Anthropogenic Sound on Marine Mammal Hearing: Underwater Acoustic Thresholds for Onset of Permanent and Temporary Threshold Shifts* (NMFS-OPR-55; p. 178). NOAA. NOAA Technical Memorandum.
- National Marine Fisheries Service (NMFS). (2018). *Revisions to: Technical Guidance for Assessing the Effects of Anthropogenic Sound on Marine Mammal Hearing (Version 2.0)* (NMFS-OPR-59; p. 178). NOAA Technical Memorandum.
- National Research Council. (2003). *Ocean noise and marine mammals*. National Academies Press.
- Nedelec, S., Ainslie, M. A., Andersson, M., Sei-Him, C., Halvorsen, M., Linné, M., Martin, B., Nöjd, A., Robinson, S. P., Simpson, S. D., Wang, L., & Ward, J. (2021). *Best Practice Guide for Underwater Particle Motion Measurement for Biological Applications* [Technical Report]. University of Exeter, IOGP Marine Sound and Life Joint Industry Programme. <https://bit.ly/3sKTKkP>.
- Nedelec, S. L., Campbell, J., Radford, A. N., Simpson, S. D., & Merchant, N. D. (2016). Particle motion: The missing link in underwater acoustic ecology. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(7), 836-842. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12544>
- Nedelec, S. L., Mills, S. C., Lecchini, D., Nedelec, B., Simpson, S. D., & Radford, A. N. (2016). Repeated exposure to noise increases tolerance in a coral reef fish. *Environmental Pollution*, 216, 428-436. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.05.058>



- Nedelec, S. L., Radford, A. N., Simpson, S. D., Nedelec, B., Lecchini, D., & Mills, S. C. (2014). Anthropogenic noise playback impairs embryonic development and increases mortality in a marine invertebrate. *Scientific Reports*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/srep05891>
- Nedwell, J., & Howell, D. (2004). *A review of offshore windfarm related underwater noise sources*. (544 R 0308; p. 63). COWRIE.
- Nedwell, J., Langworthy, J., & Howell, D. (2003). Assessment of sub-sea acoustic noise and vibration from offshore wind turbines and its impact on marine wildlife; initial measurements of underwater noise during construction of offshore windfarms and comparison with background noise. *Subacoustech Environmental Report, N° 544R0411*, 17.
- Nicolas, J., Corre, S., Gauthier, G., Robert, R., & Ansquer, D. (1996). Bacterial problems associated with scallop *Pecten maximus* larval culture. *Diseases of Aquatic Organisms*, 27, 67-76. <https://doi.org/10.3354/dao027067>
- Normandeau Associates, Exponent, Tricas, T., & Gill, A. (2011). *Effects of EMFs from Undersea Power Cables on Elasmobranchs and Other Marine Species*. (OCS Study BOEMRE 2011-09). U.S. Dept. of the Interior, Bureau of Ocean Energy Management, Pacific OCS Region.
- Norro, A., Botteldooren, D., Dekoninck, L., Haelters, J., & Rumes, B. (2013). *Qualifying and quantifying offshore wind farm-generated noise. Chapter 6*.
- Novak, A., Bruneau, M., & Lotton, P. (2018). Small-Sized Rectangular Liquid-Filled Acoustical Tank Excitation: A Modal Approach Including Leakage Through the Walls. *Acta Acustica United with Acustica*, 104(4), 586-596. <https://doi.org/10.3813/AAA.919199>
- Nowacek, D. (2013). Responsible Practices for Minimizing and Monitoring Environmental Impacts of Marine Seismic Surveys with an Emphasis on Marine Mammals. *Aquatic Mammals*, 39(4), 356-377. <https://doi.org/10.1578/AM.39.4.2013.356>
- Nystuen, J. A., McGlothlin, C. C., & Cook, M. S. (1993). The underwater sound generated by heavy rainfall. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 93(6), 3169-3177. <https://doi.org/10.1121/1.405701>



- Olafsson, E. B., Peterson, C. H., & Ambrose, W. G. J. (1994). Does recruitment limitation structure populations and communities of macro-invertebrates in marine soft sediments: The relative significance of pre- and post-settlement processes. *Oceanography and Marine Biology*, 32, 65-109.



Olivier, F., Tremblay, R., Bourget, E., & Rittschof, D. (2000). Barnacle settlement : Field experiments on the influence of larval supply, tidal level, biofilm quality and age on *Balanus amphitrite* cyprids. *Marine Ecology Progress Series*, 199, 185-204. <https://doi.org/10.3354/meps199185>

Otremba, Z., Jakubowska, M., Urban-Malinga, B., & Andrulowicz, E. (2019). Potential effects of electrical energy transmission – the case study from the Polish Marine Areas (southern Baltic Sea). *Oceanological and Hydrobiological Studies*, 48(2), 196-208. <https://doi.org/10.1515/ohs-2019-0018>

P

Packard, A., Karlsen, H. E., & Sand, O. (1990). Low frequency hearing in cephalopods. *Journal of Comparative Physiology A*, 166(4). <https://doi.org/10.1007/BF00192020>

Parker, L. M., Ross, P. M., O'Connor, W. A., Borysko, L., Raftos, D. A., & Pörtner, H.-O. (2012). Adult exposure influences offspring response to ocean acidification in oysters. *Global Change Biology*, 18(1), 82-92. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02520.x>

Parrish, C. C. (1987). Separation of aquatic lipid classes by Chromarod thin-layer chromatography with measurement by Iatroscan flame ionization detection. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 44(4), 722-731. <https://doi.org/10.1139/f87-087>

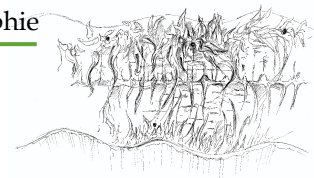
Passarelli, C., Olivier, F., Paterson, D. M., Meziane, T., & Hubas, C. (2014). Organisms as cooperative ecosystem engineers in intertidal flats. *Journal of Sea Research*, 92, 92-101. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2013.07.010>

Paulet, Y.-M., Bekhadra, F., Devauchelle, N., Donval, A., & Dorange, G. (1995). *Seasonal cycles, reproduction and oocyte quality in Pecten maximus from the Bay of Brest*. 3^e rencontres scientifiques internationales, Brest.


Pechenik, J. A. (1990). Delayed metamorphosis by larvae of benthic marine invertebrates: Does it occur? Is there a price to pay? *Ophelia*, 32(1-2), 63-94. <https://doi.org/10.1080/00785236.1990.10422025>

Pechenik, J. A. (2006). Larval experience and latent effects—Metamorphosis is not a new beginning. *Integrative and Comparative Biology*, 46(3), 323-333. <https://doi.org/10.1093/icb/icj028>

Pechenik, J. A., & Heyman, W. D. (1987). Using KCI to determine size at competence for larvae of the marine gastropod *Crepidula fornicata* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 112(1), 27-38. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(87\)80012-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(87)80012-6)



- Pedersen, T. M., Hansen, J. L. S., Josefson, A. B., & Hansen, B. W. (2008). Mortality through ontogeny of soft-bottom marine invertebrates with planktonic larvae. *Journal of Marine Systems*, 73(1-2), 185-207. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2007.10.008>
- Pelletier, M. C., Burgess, R. M., Cantwell, M. G., Serbst, J. R., Ho, K. T., & Ryba, S. A. (2000). Importance of maternal transfer of the photoreactive polycyclic aromatic hydrocarbon fluoranthene from benthic adult bivalves to their pelagic larvae. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(11), 2691-2698. <https://doi.org/10.1002/etc.5620191112>
- Peng, C., Zhao, X., Liu, S., Shi, W., Han, Y., Guo, C., Jiang, J., Wan, H., Shen, T., & Liu, G. (2016). Effects of anthropogenic sound on digging behavior, metabolism, Ca²⁺/Mg²⁺ ATPase activity, and metabolism-related gene expression of the bivalve *Sinonovacula constricta*. *Scientific Reports*, 6(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/srep24266>
- Pernet, F., Bricelj, V. M., & Cartier, S. (2005). Lipid class dynamics during larval ontogeny of sea scallops, *Placopecten magellanicus*, in relation to metamorphic success and response to antibiotics. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 329(2), 265-280. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.09.008>
- Pernet, F., Pelletier, C. J., & Milley, J. (2006). Comparison of three solid-phase extraction methods for fatty acid analysis of lipid fractions in tissues of marine bivalves. *Journal of Chromatography A*, 1137(2), 127-137. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.10.059>
- Pernet, F., & Tremblay, R. (2004). Effect of varying levels of dietary essential fatty acid during early ontogeny of the sea scallop *Placopecten magellanicus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 310(1), 73-86. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2004.04.001>
- Pernet, F., Tremblay, R., Comeau, L., & Guderley, H. (2007). Temperature adaptation in two bivalve species from different thermal habitats: Energetics and remodelling of membrane lipids. *Journal of Experimental Biology*, 210(17), 2999-3014. <https://doi.org/10.1242/jeb.006007>
- Pessatti, M. L., Resgalla Jr., C., REIS Fo., R. W., Kuehn, J., Salomão, L. C., & Fontana, J. D. (2002). Variability of filtration and food assimilation rates, respiratory activity and multixenobiotic resistance (MXR) mechanism in the mussel *Perna perna* under lead influence. *Brazilian Journal of Biology*, 62(4a), 651-656. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842002000400013>
- Petersen, J. K., & Malm, T. (2006). Offshore Windmill Farms: Threats to or Possibilities for the Marine Environment. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 35(2), 75-80. [https://doi.org/10.1579/0044-7447\(2006\)35\[75:OWFTTO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1579/0044-7447(2006)35[75:OWFTTO]2.0.CO;2)

- 
- Pilditch, C. A., Valanko, S., Norkko, J., & Norkko, A. (2015). Post-settlement dispersal: The neglected link in maintenance of soft-sediment biodiversity. *Biology Letters*, *11*(2). <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.0795>
- Pine, M. K., Jeffs, A. G., & Radford, C. A. (2012). Turbine Sound May Influence the Metamorphosis Behaviour of Estuarine Crab Megalopae. *PLoS ONE*, *7*(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051790>
- Pine, M. K., Jeffs, A. G., & Radford, C. A. (2016). Effects of Underwater Turbine Noise on Crab Larval Metamorphosis. In A. N. Popper & A. Hawkins (Éds.), *The Effects of Noise on Aquatic Life II* (Vol. 875, p. 847-852). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2981-8_104
- Pineda, J., Reyns, N. B., & Starczak, V. R. (2009). Complexity and simplification in understanding recruitment in benthic populations. *Population Ecology*, *51*(1), 17-32. <https://doi.org/10.1007/s10144-008-0118-0>
- Podolsky, R. D. (2006). Integrating function across marine life cycles. *Integrative and Comparative Biology*, *46*(5), 577-586. <https://doi.org/10.1093/icb/icl026>
- Poppe, G. T., & Goto, Y. (1993). *European sea shell* (Naturama, Vol. 1).
- Popper, A. N., & Fay, R. R. (1993). Sound Detection and Processing by Fish: Critical Review and Major Research Questions. *Brain Behavior Evolution*, *41*, 14-38.
- Popper, A. N., & Fay, R. R. (2011). Rethinking sound detection by fishes. *Hearing Research*, *273*(1-2), 25-36. <https://doi.org/10.1016/j.heares.2009.12.023>
- Popper, A. N., Fewtrell, J., Smith, M. E., & McCauley, R. D. (2003). Anthropogenic Sound: Effects on the Behavior and Physiology of Fishes. *Marine Technology Society Journal*, *37*(4), 35-40. <https://doi.org/10.4031/002533203787537050>
- Popper, A. N., & Hawkins, A. D. (2018). The importance of particle motion to fishes and invertebrates. *The Journal of the Acoustical Society of America*, *143*(1), 470-488. <https://doi.org/10.1121/1.5021594>
- Popper, A. N., & Hawkins, A. D. (2019). An overview of fish bioacoustics and the impacts of anthropogenic sounds on fishes. *Journal of Fish Biology*, *94*(5), 692-713. <https://doi.org/10.1111/jfb.13948>
- Popper, A. N., Hawkins, A. D., Fay, R. R., Mann, D. A., Bartol, S., Carlson, T. J., Coombs, S., Ellison, W. T., Gentry, R. L., Halvorsen, M. B., Løkkeborg, S., Rogers, P. H., Southall, B. L., Zeddis, D. G., & Tavolga, W. N. (2014). *Sound Exposure Guidelines for Fishes and Sea Turtles: A Technical Report prepared by ANSI-Accredited Standards Committee S3/SC1 and registered with ANSI, ASA Press and Springer*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06659-2>
- Popper, A. N., Salmon, M., & Horch, K. W. (2001). Acoustic detection and communication by decapod crustaceans. *Journal of Comparative Physiology A*:



Sensory, Neural, and Behavioral Physiology, 187(2), 83-89.
<https://doi.org/10.1007/s003590100184>

Pörtner, H.-O., Bock, C., & Mark, F. C. (2017). Oxygen- and capacity-limited thermal tolerance: Bridging ecology and physiology. *Journal of Experimental Biology*, 220(15), 2685-2696. <https://doi.org/10.1242/jeb.134585>

Prado, S., Romalde, J. L., & Barja, J. L. (2010). Review of probiotics for use in bivalve hatcheries. *Veterinary Microbiology*, 145(3-4), 187-197. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.08.021>

Prins, T. C., Smaal, A. C., & Dame, R. F. (1998). A review of the feedbacks between bivalve grazing and ecosystem processes. *Aquatic Ecology*, 31, 349-359. <https://doi.org/10.1023/A:1009924624259>

R

Przeslawski, R., Byrne, M., & Mellin, C. (2015). A review and meta-analysis of the effects of multiple abiotic stressors on marine embryos and larvae. *Global Change Biology*, 21(6), 2122-2140. <https://doi.org/10.1111/gcb.12833>

Radford, C., Jeffs, A., Tindle, C., & Montgomery, J. (2008). Resonating sea urchin skeletons create coastal choruses. *Marine Ecology Progress Series*, 362, 37-43. <https://doi.org/10.3354/meps07444>

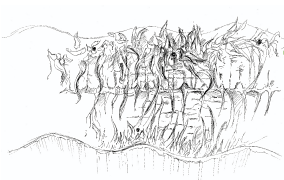
Ramirez, L., Fraile, D., & Brindley. (2020). *Offshore Wind in Europe*. Wind Europe. <https://windeurope.org/wp-content/uploads/files/about-wind/statistics/WindEurope-Annual-Offshore-Statistics-2019.pdf>

Raoux, A., Lassalle, G., Pezy, J.-P., Tecchio, S., Safi, G., Ernande, B., Mazé, C., Loc'h, F. L., Lequesne, J., Girardin, V., Dauvin, J.-C., & Niquil, N. (2019). Measuring sensitivity of two OSPAR indicators for a coastal food web model under offshore wind farm construction. *Ecological Indicators*, 96, 728-738. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2018.07.014>

Raoux, A., Tecchio, S., Pezy, J.-P., Lassalle, G., Degraer, S., Wilhelmsson, D., Cachera, M., Ernande, B., Le Guen, C., Haraldsson, M., Grangeré, K., Le Loc'h, F., Dauvin, J.-C., & Niquil, N. (2017). Benthic and fish aggregation inside an offshore wind farm: Which effects on the trophic web functioning? *Ecological Indicators*, 72, 33-46. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.07.037>

Rapport de la septième réunion des parties à l'ACCOBAMS (ACCOBAMS-MOP7/2019/Doc38; p. 443). (2019). ACCOBAMS.

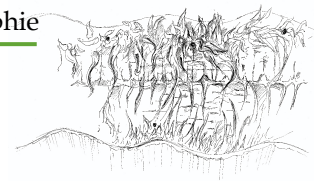
Rayssac, N., Pernet, F., Lacasse, O., & Tremblay, R. (2010a). Temperature effect on survival, growth, and triacylglycerol content during the early ontogeny of *Mytilus edulis* and *M. Trossulus*. *Marine Ecology Progress Series*, 417, 183-191. <https://doi.org/10.3354/meps08774>




- Rayssac, N., Pernet, F., Lacasse, O., & Tremblay, R. (2010b). Temperature effect on survival, growth, and triacylglycerol content during the early ontogeny of *Mytilus edulis* and *M. trossulus*. *Marine Ecology Progress Series*, 417, 183-191. <https://doi.org/10.3354/meps08774>
- Regnault, M., & Lagardere, J.-P. (1983). Effects of ambient noise on the metabolic level of *Crangon crangon* (Decapoda, Natantia). *Marine ecology progress series. Oldendorf*, 11(1), 71-78.
- Richardson, W., Malme, C. I., green, J. C. R., & Thomson, D. H. (1995). *Marine mammals and noise* (Vol. 1). Academic Press.
- Robert, R., Nicolas, L., Moisan, C., & Barbier, G. (1999). Morphological and biochemical characterizations of the great scallop *Pecten maximus* metamorphosis. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie*, 322(10), 847-853. [https://doi.org/10.1016/S0764-4469\(00\)86650-0](https://doi.org/10.1016/S0764-4469(00)86650-0)
- Roberts, L., Cheesman, S., Breithaupt, T., & Elliott, M. (2015). Sensitivity of the mussel *Mytilus edulisto* substrate-borne vibration in relation to anthropogenically generated noise. *Marine ecology*, 538, 185-195.
- Roberts, L., & Elliott, M. (2017). Good or bad vibrations? Impacts of anthropogenic vibration on the marine epibenthos. *Science of The Total Environment*, 595, 255-268. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.117>
- Robinson, S. P., Lepper, P. A., & Ablitt, J. (2007). The measurement of the underwater radiated noise from marine piling including characterisation of a « soft start » period. *OCEANS 2007 - Europe*, 1-6. <https://doi.org/10.1109/OCEANSE.2007.4302326>
- Robinson, S. P., Theobald, P. D., & Lepper, P. A. (2013). *Underwater noise generated from marine piling*. ECUA 2012 11th European Conference on Underwater Acoustics, Edinburgh, Scotland. <https://doi.org/10.1121/1.4790330>
- Rogers, P. H., Hawkins, A. D., Popper, A. N., Fay, R. R., & Gray, M. D. (2016). Parvulescu Revisited: Small Tank Acoustics for Bioacousticians. In A. N. Popper & A. Hawkins (Éds.), *The Effects of Noise on Aquatic Life II* (Vol. 875, p. 933-941). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2981-8_115

S

- Samson, J. E., Mooney, T. A., Gussekloo, S. W. S., & Hanlon, R. T. (2014). Graded behavioral responses and habituation to sound in the common cuttlefish *Sepia officinalis*. *Journal of Experimental Biology*, 217(24), 4347-4355. <https://doi.org/10.1242/jeb.113365>
- Samson, J. E., Mooney, T. A., Gussekloo, S. W. S., & Hanlon, R. T. (2016). A brief review of cephalopod behavioral responses to sound. In *The Effects of Noise on*




- Aquatic Life II* (Vol. 875, p. 969-975). Springer New York LLC.
https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2981-8_120
- Sand, O. (1981). The Lateral Line and Sound Reception. In W. N. Tavolga, A. N. Popper, & R. R. Fay (Éds.), *Hearing and Sound Communication in Fishes* (p. 459-480). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7186-5_23
- Saout, C., Quere, C., Donval, A., Paulet, Y.-M., & Samain, J.-F. (1999). An experimental study of the combined effects of temperature and photoperiod on reproductive physiology of *Pecten maximus* from the Bay of Brest, France. *Aquaculture*, 172, 301-314.
- Sastry, A. N., & Blake, N. J. (1971). Regulation of gonad development in the bay scallop *Aequipecten irradians*, Lamarck. *The Biological Bulletin*, 140(2), 274-283. <https://doi.org/10.2307/1540074>
- Schmutz, A., Tremblay, R., Audet, C., Gagné, J.-P., Pelletier, É., & St-Louis, R. (2021). Under ice spills of conventional crude oil and diluted bitumen: Physiological resilience of the blue mussel and transgenerational effects. *Science of The Total Environment*, 779. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146316>
- Shields, M. A., & Payne, A. I. L. (Éds.). (2014). *Marine Renewable Energy Technology and Environmental Interactions*. Springer Netherlands. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-8002-5>
- Shumway, S. E., Davis, C., Downey, R., Karney, R., Krauter, J., Rheault, R., & Wikfors, G. (2003). Shellfish aquaculture—In praise of sustainable economies and environments. *World Aquaculture*, 34(4), 15-18.
- Simpson, S. D., Meekan, M. G., Jeffs, A., Montgomery, J. C., & McCauley, R. D. (2008). Settlement-stage coral reef fish prefer the higher-frequency invertebrate-generated audible component of reef noise. *Animal Behaviour*, 75(6), 1861-1868. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.11.004>
- Simpson, S. D., Meekan, M., Montgomery, J., McCauley, R., & Jeffs, A. (2005). Homeward Sound. *Science*, 308(5719), 221-221. <https://doi.org/10.1126/science.1107406>
- Simpson, S., Yan, H., Wittenrich, M., & Meekan, M. (2005). Response of embryonic coral reef fishes (Pomacentridae: *Amphiprion* spp.) to noise. *Marine Ecology Progress Series*, 287, 201-208. <https://doi.org/10.3354/meps287201>
- Singla, C. L. (1975). Statocysts of hydromedusae. *Cell and Tissue Research*, 158(3). <https://doi.org/10.1007/BF00223835>
- Slabbekoorn, H., Bouton, N., Opzeeland, I. van, Coers, A., Cate, C. ten, & Popper, A. N. (2010). A noisy spring: The impact of globally rising underwater sound levels on fish. *Trends in Ecology & Evolution*, 25(7), 419-427. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2010.04.005>

- 
- Smaal, A. C., Ferreira, J. G., Grant, J., Petersen, J. K., & Strand, Ø. (Éds.). (2019). *Goods and Services of Marine Bivalves*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-96776-9>
- Sokolova, I. (2021). Bioenergetics in environmental adaptation and stress tolerance of aquatic ectotherms: Linking physiology and ecology in a multi-stressor landscape. *Journal of Experimental Biology*, 224. <https://doi.org/10.1242/jeb.236802>
- Solan, M., Cardinale, B. J., Downing, A. L., Engelhardt, K. A. M., Ruesink, J. L., & Srivastava, D. S. (2004). Extinction and Ecosystem Function in the Marine Benthos. *Science*, 306(5699), 1177-1180. <https://doi.org/10.1126/science.1103960>
- Solan, M., Hauton, C., Godbold, J. A., Wood, C. L., Leighton, T. G., & White, P. (2016). Anthropogenic sources of underwater sound can modify how sediment-dwelling invertebrates mediate ecosystem properties. *Scientific Reports*, 6(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/srep20540>
- Solé, M., Lenoir, M., Durfort, M., López-Bejar, M., Lombarte, A., van der Schaar, M., & André, M. (2013). Does exposure to noise from human activities compromise sensory information from cephalopod statocysts? *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 95, 160-181. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2012.10.006>
- Solé, M., Lenoir, M., Fontuño, J. M., Durfort, M., Schaar, M. van der, & André, M. (2016). Evidence of Cnidarians sensitivity to sound after exposure to low frequency noise underwater sources. *Scientific Reports*, 6(1), 1-18. <https://doi.org/10.1038/srep37979>
- Solé, M., Lenoir, M., Fortuño, J.-M., Schaar, M. van der, & André, M. (2018). A critical period of susceptibility to sound in the sensory cells of cephalopod hatchlings. *Biology Open*, 7(10). <https://doi.org/10.1242/bio.033860>
- Soudant, P., Marty, Y., Moal, J., Masski, H., & Jean François Samain. (1998). Fatty acid composition of polar lipid classes during larval development of scallop *Pecten maximus* (L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 121(3), 279-288. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(98\)10130-7](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(98)10130-7)
- Soudant, P., Marty, Y., Moal, J., Robert, R., Quéré, C., Le Coz, J. R., & Samain, J. F. (1996). Effect of food fatty acid and sterol quality on *Pecten maximus* gonad composition and reproduction process. *Aquaculture*, 143(3-4), 361-378. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(96\)01276-8](https://doi.org/10.1016/0044-8486(96)01276-8)
- Southall, B. L., Bowles, A. E., Ellison, W. T., Finneran, J. J., Gentry, R. L., Greene, C. R., Kastak, D., Ketten, D. R., Miller, J. H., Nachtigall, P. E., Richardson, W. J., Thomas, J. A., & Tyack, P. L. (2007). Marine Mammal Noise Exposure Criteria: Initial Scientific Recommendations. *Aquatic Mammals*, 33(4), 411-521. <https://doi.org/10.1080/09524622.2008.9753846>



- Southall, B. L., Finneran, J. J., Reichmuth, C., Nachtigall, P. E., Ketten, D. R., Bowles, A. E., Ellison, W. T., Nowacek, D. P., & Tyack, P. L. (2019). Marine Mammal Noise Exposure Criteria: Updated Scientific Recommendations for Residual Hearing Effects. *Aquatic Mammals*, 45(2), 125-232. <https://doi.org/10.1578/AM.45.2.2019.125>
- Southall, B. L., Nowacek, D. P., Bowles, A. E., Senigaglia, V., Bejder, L., & Tyack, P. L. (2021). Marine Mammal Noise Exposure Criteria: Assessing the Severity of Marine Mammal Behavioral Responses to Human Noise. *Aquatic Mammals*, 47(5), 421-464. <https://doi.org/10.1578/AM.47.5.2021.421>
- Spicer, J. I. (2014). What can an ecophysiological approach tell us about the physiological responses of marine invertebrates to hypoxia? *Journal of Experimental Biology*, 217(1), 46-56. <https://doi.org/10.1242/jeb.090365>
- Spiga, I., Caldwell, G. S., & Brintjes, R. (2016). Influence of Pile Driving on the Clearance Rate of the Blue Mussel, *Mytilus edulis*(L.). *Proceedings of Meetings on Acoustics*, 27. <https://doi.org/10.1121/2.0000277>
- Stahlschmidt, V., & Wolff, H. G. (1972). The fine structure of the statocyst of the prosobranch mollusc *Pomacea paludosa*. *Zeitschrift Für Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*, 133(4), 529-537. <https://doi.org/10.1007/BF00307133>
- Stanley, J. A., Hesse, J., Hinojosa, I. A., & Jeffs, A. G. (2015). Inducers of settlement and moulting in post-larval spiny lobster. *Oecologia*, 178(3), 685-697. <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3251-4>
- Stanley, J. A., Radford, C. A., & Jeffs, A. G. (2009). Induction of settlement in crab megalopae by ambient underwater reef sound. *Behavioral Ecology*, 21(1), 113-120. <https://doi.org/10.1093/beheco/arp159>
- Stanley, J. A., Radford, C. A., & Jeffs, A. G. (2012). Location, location, location: Finding a suitable home among the noise. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279(1742), 3622-3631. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.0697>
- Stanley, J. A., Wilkens, S. L., & Jeffs, A. G. (2014). Fouling in your own nest: Vessel noise increases biofouling. *Biofouling*, 30(7), 837-844. <https://doi.org/10.1080/08927014.2014.938062>
- Stocks, J. R. (2012). Response of Marine Invertebrate Larvae to Natural and Anthropogenic Sound: A Pilot Study. *The Open Marine Biology Journal*, 6(1), 57-61. <https://doi.org/10.2174/1874450801206010057>
- Szostek, C., Davies, A., & Hinz, H. (2013). Effects of elevated levels of suspended particulate matter and burial on juvenile king scallops *Pecten maximus*. *Marine Ecology Progress Series*, 474, 155-165. <https://doi.org/10.3354/meps10088>

- 
- Taormina, B., Bald, J., Want, A., Thouzeau, G., Lejart, M., Desroy, N., & Carlier, A. (2018). A review of potential impacts of submarine power cables on the marine environment: Knowledge gaps, recommendations and future directions. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 96, 380-391. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.07.026>
- Tasker, M. L., Amundin, M., Andre, A., Hawkins, A., Lang, W., Merck, T., Scholik-Schlomer, A., Teilmann, J., Thomsen, F., Werner, S., & Zakharia, M. (2010). *Marine Strategy Framework Directive: Task group 11 report: underwater noise and other forms of energy, April 2010*. International Council for the Exploration of the Sea (ICES), European Commission. Joint Research Centre. <https://data.europa.eu/doi/10.2788/87079>
- Teubner, K., & Dokulil, M. T. (2002). ¹⁴C-photosynthesis of phytoplankton in an oligotrophic alpine lake (Traunsee, Austria) and its response to turbidity caused by industrial tailings. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2, 181-190.
- Thomsen, F., Mendes, S., Bertucci, F., Breitzke, M., Ciappi, E., Cresci, A., Debusschere, E., Ducatel, C., Folegot, T., Juretzek, C., Frans-Peter Lam, O'Brien, J., & Santos, M. E. D. (2021). *Addressing underwater noise in Europe: Current state of knowledge and future priorities* (N° 7; Future Science Brief). European Marine Board. <https://doi.org/10.5281/ZENODO.5534224>
- Thor, P., Vermandele, F., Carignan, M.-H., Jacque, S., & Calosi, P. (2018). No maternal or direct effects of ocean acidification on egg hatching in the Arctic copepod *Calanus glacialis*. *PLOS ONE*, 13(2). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192496>
- Thorson, G. (1950). Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biological Reviews*, 25(1), 1-45. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1950.tb00585.x>
- Tidau, S., & Briffa, M. (2019). Distracted decision makers: Ship noise and predation risk change shell choice in hermit crabs. *Behavioral Ecology*, 30(4), 1157-1167. <https://doi.org/10.1093/beheco/arz064>
- Tillin, H., Hiddink, J., Jennings, S., & Kaiser, M. (2006). Chronic bottom trawling alters the functional composition of benthic invertebrate communities on a sea-basin scale. *Marine Ecology Progress Series*, 318, 31-45. <https://doi.org/10.3354/meps318031>
- Toonen, R. J., & Pawlik, J. R. (1994). Foundations of gregariousness. *Nature*, 370, 511-512.
- Torres, G., Charmantier, G., Wilcockson, D., Harzsch, S., & Giménez, L. (2021). Physiological basis of interactive responses to temperature and salinity in coastal marine invertebrate: Implications for responses to warming. *Ecology and Evolution*, 11(11), 7042-7056. <https://doi.org/10.1002/ece3.7552>



- Torres, G., Thomas, D. N., Whiteley, N. M., Wilcockson, D., & Giménez, L. (2020). Maternal and cohort effects modulate offspring responses to multiple stressors. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1929). <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0492>
- Tougaard, J., Henriksen, O. D., & Miller, L. A. (2009). Underwater noise from three types of offshore wind turbines: Estimation of impact zones for harbor porpoises and harbor seals. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 125(6), 3766-3773. <https://doi.org/10.1121/1.3117444>
- Toupoint, N., Gilmore-Solomon, L., Bourque, F., Myrand, B., Pernet, F., Olivier, F., & Tremblay, R. (2012). Match/mismatch between the *Mytilus edulis* larval supply and seston quality: Effect on recruitment. *Ecology*, 93(8), 1922-1934. <https://doi.org/10.1890/11-1292.1>
- Toupoint, N., Mohit, V., Linossier, I., Bourgougnon, N., Myrand, B., Olivier, F., Lovejoy, C., & Tremblay, R. (2012). Effect of biofilm age on settlement of *Mytilus edulis*. *Biofouling*, 28(9), 985-1001. <https://doi.org/10.1080/08927014.2012.725202>
- Tournadre, J. (2014). Anthropogenic pressure on the open ocean: The growth of ship traffic revealed by altimeter data analysis. *Geophysical Research Letters*, 41(22), 7924-7932. <https://doi.org/10.1002/2014GL061786>
- Tremblay, R., Christophersen, G., Nadalini, J.-B., Redjah, I., Magnesen, T., & Andersen, S. (2020). Improving scallop (*Pecten maximus* and *Placopecten magellanicus*) spat production by initial larvae size and hydrodynamic cues used in nursery system. *Aquaculture*, 516. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734650>
- Tremblay, R., Olivier, F., Bourget, E., & Rittschof, D. (2007). Physiological condition of *Balanus amphitrite* cyprid larvae determines habitat selection success. *Marine Ecology Progress Series*, 340, 1-8. <https://doi.org/10.3354/meps340001>
- Trumble, S. J., Robinson, E. M., Berman-Kowalewski, M., Potter, C. W., & Usenko, S. (2013). Blue whale earplug reveals lifetime contaminant exposure and hormone profiles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(42), 16922-16926. <https://doi.org/10.1073/pnas.1311418110>

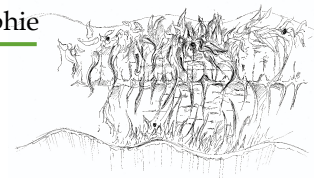
U

- Utne-Palm, A. C. (2002). Visual feeding of fish in a turbid environment: Physical and behavioural aspects. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 35(1-2), 111-128. <https://doi.org/10.1080/10236240290025644>

V



- Van der Graaf, A. J., Ainslie, M. A., André, M., Brensing, K., Dalen, J., Dekeling, R. P. A., Robinson, S. P., Tasker, M. L., Thomsen, F., & Werner, S. (2012). *European Marine Strategy Framework Directive – Good Environmental Status (MSFD GES): Report of the Technical Subgroup on Underwater noise and other forms of energy* (p. 1-75).
- Vandemeulebrouck, J., Sabroux, J.-C., Halbwachs, M., Surono, Poussielgue, N., Grangeon, J., & Tabbagh, J. (2000). Hydroacoustic noise precursors of the 1990 eruption of Kelut Volcano, Indonesia. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 97(1-4), 443-456. [https://doi.org/10.1016/S0377-0273\(99\)00176-6](https://doi.org/10.1016/S0377-0273(99)00176-6)
- Vardhan, H., Adhikari, G. R., & Govinda Raj, M. (2009). Estimating rock properties using sound levels produced during drilling. *International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences*, 46(3), 604-612. <https://doi.org/10.1016/j.ijrmms.2008.07.011>
- Vazzana, M., Celi, M., Maricchiolo, G., Genovese, L., Corrias, V., Quinci, E. M., de Vincenzi, G., Maccarrone, V., Cammilleri, G., Mazzola, S., Buscaino, G., & Filiciotto, F. (2016). Are mussels able to distinguish underwater sounds? Assessment of the reactions of *Mytilus galloprovincialis* after exposure to lab-generated acoustic signals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 201, 61-70. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.06.029>
- Vazzana, M., Ceraulo, M., Mauro, M., Papale, E., Dioguardi, M., Mazzola, S., Arizza, V., Chiaramonte, M., & Buscaino, G. (2020). Effects of acoustic stimulation on biochemical parameters in the digestive gland of Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* (Lamarck, 1819). *The Journal of the Acoustical Society of America*, 147(4), 2414-2422. <https://doi.org/10.1121/10.0001034>
- Vazzana, M., Mauro, M., Ceraulo, M., Dioguardi, M., Papale, E., Mazzola, S., Arizza, V., Beltrame, F., Inguglia, L., & Buscaino, G. (2020). Underwater high frequency noise: Biological responses in sea urchin *Arbacia lixula* (Linnaeus, 1758). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 242, 110650. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.110650>
- Vehmaa, A., Brutemark, A., & Engström-Öst, J. (2012). Maternal Effects May Act as an Adaptation Mechanism for Copepods Facing pH and Temperature Changes. *PLoS ONE*, 7(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048538>
- Vermeij, M. J. A., Marhaver, K. L., Huijbers, C. M., Nagelkerken, I., & Simpson, S. D. (2010). Coral Larvae Move toward Reef Sounds. *PLoS ONE*, 5(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010660>
- Versluis, M., Schmitz, B., von der Heydt, A., & Lohse, D. (2000). How Snapping Shrimp Snap: Through Cavitating Bubbles. *Science*, 289(5487), 2114-2117. <https://doi.org/10.1126/science.289.5487.211>
- Vignier, J., Donaghy, L., Soudant, P., Chu, F. L. E., Morris, J. M., Carney, M. W., Lay, C., Krasnec, M., Robert, R., & Volety, A. K. (2015). Impacts of Deepwater



Horizon oil and associated dispersant on early development of the Eastern oyster *Crassostrea virginica*. *Marine Pollution Bulletin*, 100(1), 426-437. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.08.011>

Vignier, J., Soudant, P., Chu, F. L. E., Morris, J. M., Carney, M. W., Lay, C. R., Krasnec, M. O., Robert, R., & Volety, A. K. (2016). Lethal and sub-lethal effects of Deepwater Horizon slick oil and dispersant on oyster (*Crassostrea virginica*) larvae. *Marine Environmental Research*, 120, 20-31. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2016.07.006>

Villanueva, R., Vidal, E. A. G., Fernández-Álvarez, F. Á., & Nabhitabhata, J. (2016). Early Mode of Life and Hatchling Size in Cephalopod Molluscs: Influence on the Species Distributional Ranges. *PLOS ONE*, 11(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165334>

W

Wale, M. A., Briers, R. A., Bryson, D., Hartl, M. G. J., & Diele, K. (2016). The Effects of Anthropogenic Noise Playbacks on the Blue Mussel *Mytilus edulis*. *Marine Alliance for Science & Technology for Scotland (MASTS) Annual Science Meeting*. <http://www.masts.ac.uk/media/36069/2016-abstracts-gen-sci-session-3.pdf>

Wale, M. A., Briers, R. A., & Diele, K. (2021). Marine invertebrate anthropogenic noise research – Trends in methods and future directions. *Marine Pollution Bulletin*, 173. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112958>

Wale, M. A., Briers, R. A., Hartl, M. G. J., Bryson, D., & Diele, K. (2019). From DNA to ecological performance: Effects of anthropogenic noise on a reef-building mussel. *Science of The Total Environment*, 689, 126-132. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.380>

Wale, M. A., Simpson, S. D., & Radford, A. N. (2013a). Size-dependent physiological responses of shore crabs to single and repeated playback of ship noise. *Biology Letters*, 9(2). <https://doi.org/10.1098/rsbl.2012.1194>

Wale, M. A., Simpson, S. D., & Radford, A. N. (2013b). Noise negatively affects foraging and antipredator behaviour in shore crabs. *Animal Behaviour*, 86(1), 111-118. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2013.05.001>

Watkins, W. A. (1986). Whale reaction to human activities in Cape Cod waters. *Marine Mammal Science*, 2(4), 251-262. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1986.tb00134.x>

Webb, S. C. (1998). Broadband seismology and noise under the ocean. *Reviews of Geophysics*, 36(1), 105-142. <https://doi.org/10.1029/97RG02287>



- Weilgart, L. S. (2007). A Brief Review of Known Effects of Noise on Marine Mammals. *International Journal of Comparative Psychology*, 20.
- Wenz, G. M. (1962). Acoustic Ambient Noise in the Ocean: Spectra and Sources. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 34(12), 1936-1956. <https://doi.org/10.1121/1.1909155>
- Werner, E. E., & Gilliam, J. F. (1984). The ontogenetic niche and species interactions in size-structured populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 15, 393-425.
- Whyte, J. N. C., Bourne, N., & Ginther, N. G. (1991). Depletion of nutrient reserves during embryogenesis in the scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 149(1), 67-79. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(91\)90117-F](https://doi.org/10.1016/0022-0981(91)90117-F)
- Wilhelmsson, D., & Malm, T. (2008). Fouling assemblages on offshore wind power plants and adjacent substrata. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 79(3), 459-466. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.04.020>
- Wilhelmsson, D., Malm, T., & Öhman, M. C. (2006). The influence of offshore windpower on demersal fish. *ICES Journal of Marine Science*, 63(5), 775-784. <https://doi.org/10.1016/j.icesjms.2006.02.001>
- Wilke, F., Kloske, K., & Bellmann, D. M. (2012). *ESRa – Evaluation of Systems for Ramming Noise Mitigation at an Offshore Test Pile*. 168.
- Wilkens, S. L., Stanley, J. A., & Jeffs, A. G. (2012). Induction of settlement in mussel (*Perna canaliculus*) larvae by vessel noise. *Biofouling*, 28(1), 65-72. <https://doi.org/10.1080/08927014.2011.651717>
- Williams, B. R., McAfee, D., & Connell, S. D. (2022). Oyster larvae swim along gradients of sound. *Journal of Applied Ecology*, 59(7), 1815-1824. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.14188>
- Wilson, O. B., Wolf, S. N., & Ingenito, F. (1985). Measurements of acoustic ambient noise in shallow water due to breaking surf. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 78(1), 190-195. <https://doi.org/10.1121/1.392557>
- World Energy Outlook*. (2021). International Energy Agency. <https://iea.blob.core.windows.net/assets/4ed140c1-c3f3-4fd9-acae-789a4e14a23c/WorldEnergyOutlook2021.pdf>
- Würsig, B., Greene, C. R., & Jefferson, T. A. (2000). Development of an air bubble curtain to reduce underwater noise of percussive piling. *Marine Environmental Research*, 49(1), 79-93. [https://doi.org/10.1016/S0141-1136\(99\)00050-1](https://doi.org/10.1016/S0141-1136(99)00050-1)



- Xie, Y., & Farmer, D. M. (1992). The sound of ice break-up and floe interaction. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 91(3), 1423-1428. <https://doi.org/10.1121/1.402473>

Y

- Yamamoto, H., Shimizu, K., Tachibana, A., & Fusetani, N. (1999). Roles of dopamine and serotonin in larval attachment of the barnacle, *Balanus amphitrite*. *Journal of Experimental Zoology*, 284(7), 746-758. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19991201\)284:7<746::AID-JEZ4>3.0.CO;2-J](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19991201)284:7<746::AID-JEZ4>3.0.CO;2-J)
- Yvin, J. C., Chevolut, L., Chevolut-Magueur, A. M., & Cochard, J.-C. (1985). First isolation of Jacaranone from an alga, *Delessieria sanguinea*. A metamorphosis inducer of *Pecten* larvae. *Journal of Natural Products*, 48(5), 814-816.

Z

- Zhadan, P. M. (2005). Directional sensitivity of the Japanese scallop *Mizuhopecten yessoensis* and Swift scallop *Chlamys swifti* to water-borne vibrations. *Russian Journal of Marine Biology*, 31(1), 28-35. <https://doi.org/10.1007/s11179-005-0040-7>
- Zippay, M. L., & Helmuth, B. (2012). Effects of temperature change on mussel, *Mytilus*. *Integrative Zoology*, 7(3), 312-327. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2012.00310.x>

Titre : « **Caractérisation de l'impact acoustique des travaux de battage de pieu et de forage associés à la construction d'éoliennes offshore sur les stades larvaires des bivalves marins *Pecten maximus* et *Venus verrucosa*** »

Mots clés : anthropophonie, écologie larvaire, recrutement, acides gras

Résumé : Les activités humaines introduisent des bruits dans le milieu marin et modifient le paysage acoustique naturel. Avec l'essor des énergies marines renouvelables, l'installation massive d'éoliennes offshore engendre des sons basse fréquence à des niveaux très élevés. Les études concernant l'impact de la pollution sonore sur les animaux marins sont de plus en plus nombreuses mais les invertébrés en sont les grands oubliés malgré leur sensibilité acoustique démontrée et leurs rôles écologiques majeurs dans l'écosystème côtier. L'enjeu de cette thèse fut d'étudier l'impact des bruits de battage et de forage liés aux travaux offshore sur les stades larvaires de deux bivalves : la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* et la praire *Venus verrucosa*. Nous avons donc conçu une cuve expérimentale permettant à la fois l'élevage larvaire et la diffusion fidèle de sons en limitant les phénomènes de

réverbération et de résonance. Grâce à cette cuve, nous avons montré des effets contrastés du battage et du forage sur les processus physiologiques des larves à travers leur croissance, leur mortalité et leur contenu énergétique. Nous avons particulièrement relevé que les sons modifient la dynamique de métamorphose, processus déterminant du cycle de vie où les larves doivent choisir l'endroit optimal pour se fixer et entamer leur phase benthique définitive. Ces effets sont totalement spécifiques à l'espèce, au niveau sonore et au stade d'exposition. Nous avons aussi démontré que l'exposition d'adultes module leur investissement de reproduction, la qualité de leur descendance et donc les performances des larves. Ainsi, l'introduction d'activités anthropiques dans le milieu marin pourrait modifier la dynamique de recrutement larvaire et perturber le renouvellement des populations de bivalves.

Title : “**Acoustic impact of pile driving and drilling associated with offshore wind farm installation on larval stages of two marine bivalves, *Pecten maximus* and *Venus verrucosa***”

Keywords : anthropophony, larval ecology, recruitment, fatty acids

Abstract : Human activities introduce sounds in the marine environment and change the natural sound landscape. Global warming has raised the urgency for developing marine renewable energies so wind farm projects are rapidly increasing. However, their installation produce low-frequency sounds at high levels in the shallow environment. Impact of anthropogenic noise on animals is major source of concern for scientific community but the effects on invertebrates are still poorly documented despite their ecosystem goods and services in coastal environment. The aim of this PhD project was to study the impacts of the pile driving and the drilling sound associated with offshore installations on two bivalves' larval stages: the Great Scallop, *Pecten maximus*, and the Warty Venus, *Venus verrucosa*. We developed an experimental tank that combine both the rearing of larvae batches and the accurate

sound diffusion by attenuating reverberation and resonance. We then conducted a series of experiments to show that both sounds have contrasted effects on larvae's growth, mortality and energetic content. We highlight strong effects on metamorphosis dynamic, which is a determinant process in early life stages of benthic molluscs. At this moment, the larvae prospect to select the optimal habitat for settle and grow as a juvenile. We noticed that those effects were specie-specific, ontogenic, and varied with sound level. We also demonstrated that adults' exposure impacted their reproduction investment, their offspring quality, and induced maternal effects on larvae performances. We provided evidence that sound pollution associated with MREs installation can modulate the dynamics of larval recruitment and so the population renewal