







Université du Québec  
à Rimouski

**Structure et diversité génétique d'espèces fondatrices : un outil  
pour la gestion des zostères marines (*Zostera marina*) et des  
laminaires sucrées (*Saccharina latissima*) du St-Laurent**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en gestion de la faune et de ses habitats (profil  
recherche)

en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)

PAR

© MARIE TREILLEFORT

Février 2023



**Composition du jury :**

**Guillaume de Lafontaine, président du jury, Université du Québec à Rimouski**

**France Dufresne, directrice de recherche, Université du Québec à Rimouski**

**Fanny Noisette, examinatrice externe, Institut des sciences de la mer à Rimouski**

Dépôt initial le 12 août 2022

Dépôt final le 22 février 2023



UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI  
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.





À ma grand-mère, Yvette et à  
mon grand-père, Robert.



## REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à remercier ma directrice de recherche, France Dufresne. Merci de m'avoir permis de faire ma maîtrise sur un sujet passionnant et novateur. Pendant ces années, j'ai pu développer mon autonomie et mon expérience autant en laboratoire qu'en analyses bio-informatiques. Merci de ta supervision.

Merci à l'équipe du laboratoire, vos conseils étaient toujours utiles. Merci à Astrid, Marie-Hélène, Ivan, Sarah-Béatrice et Frédérique.

Merci à l'équipe de l'UMI à la station biologique de Roscoff, qui m'a accueillie lors d'un stage et aidée à avancer sur mon projet avec beaucoup de conseils. Un merci spécial à Stéphane Mauger, Paolo Ruggeri et Myriam Valéro qui participeront à la publication de mon premier chapitre.

Merci à Guillaume et Muriel de l'équipe du laboratoire de Guillaume de Lafontaine qui m'ont prêté du matériel, notamment le broyeur qui m'a été très utile.

Qu'aurait été ma vie universitaire sans mes amis qui m'ont soutenu tout le long de mon parcours ? Ceux qui ont partagé mes joies et qui ont essuyé mes larmes quand la fatigue et le stress prenaient le dessus. Du fond du cœur merci vous êtes mes anges ! Merci à Laurent, Valentine, Muriel, Suzie et Catherine.

Merci à toute ma famille pour votre soutien et votre confiance en moi, vous m'avez permis de m'épanouir même si c'est souvent difficile d'être si loin les uns des autres.

Merci à Fanny Noisette et Guillaume de Lafontaine pour la correction et l'évaluation de ce mémoire.

Merci aux organismes subventionnaires qui m'ont apporté leur soutien financier ces dernières années : FRQNT et MITACS.

## RÉSUMÉ

Les espèces fondatrices jouent un rôle important au sein des écosystèmes marins. Une faible diversité génétique chez ces espèces peut diminuer leur résilience et la stabilité des écosystèmes. *Saccharina latissima* et *Zostera marina* sont deux espèces fondatrices de l'estuaire et du golfe du St-Laurent. Les zostères ont connu des déclinés passés, ce qui pourrait avoir entraîné une perte de diversité génétique et compromettre leur potentiel adaptatif. La laminaire sucrée est cultivée dans le St-Laurent à partir d'une seule population souche, située à des centaines de kilomètres des fermes marines, ce qui pourrait avoir entraîné une contamination génétique des populations sauvages. Aucune étude de la diversité et de la structure génétique n'a encore été réalisée dans le St-Laurent pour ces deux espèces. L'objectif de mon mémoire était de caractériser la diversité génétique ainsi que la structure génétique de ces espèces à l'aide de marqueurs microsatellites et de marqueurs génomiques. Six localités ont été échantillonnées dans l'estuaire et le golfe du St-Laurent pour les zostères et 15 pour les laminaires. La diversité génétique des laminaires était faible et les populations peu structurées génétiquement. Trois groupes ont été identifiés à l'aide de SNP; (1) l'estuaire et le nord de la Gaspésie (2) la Côte-Nord et (3) le sud de la Gaspésie avec les Îles-de-la-Madeleine. La comparaison entre la génétique de la population souche des populations sauvages n'a pas révélé de contamination génétique. La faible diversité génétique serait à prendre en considération pour l'élaboration de souches d'élevage. Les populations de zostères étaient plus structurées et quatre groupes ont pu être détectés ; (1) l'estuaire (2) la Côte-Nord (3) la Gaspésie et (4) les Îles-de-la-Madeleine. L'utilisation de plants locaux pour la restauration des herbiers de zostères serait à privilégier considérant cette structuration importante des populations.

Mots clés : Génétique des populations ; Marqueurs microsatellites ; *Saccharina latissima* ; *Zostera marina* ; DarTSeq ; Marqueurs génomiques, St-Laurent



## ABSTRACT

Founding species play an important role in marine ecosystems. Low genetic diversity in these species can reduce their resilience and ecosystem stability. *Saccharina latissima* and *Zostera marina* are two founding species of the estuary and the Gulf of St-Lawrence. Eelgrass has experienced past declines, which may have resulted in a loss of genetic diversity and compromised their adaptive potential. Sugar kelp is cultivated in the St-Lawrence from a single stock population, located hundreds of kilometers from marine farms, which may have resulted in genetic contamination of wild populations. No study of genetic diversity and structure has been yet conducted in the St-Lawrence for these two species. The objective of my master's thesis was to characterize the genetic diversity and structure of these two species using microsatellite and genomic markers. Six locations were sampled in the estuary and Gulf of St-Lawrence for eelgrass and 15 for kelps. The genetic diversity of *Laminaria* was low and populations were poorly structured genetically. Three groups were identified from SNP; (1) the estuary and northern Gaspésie, (2) the North Shore and (3) southern Gaspésie with the Magdalen Islands. A comparison of the genetics of the source of wild populations did not reveal genetic contamination. Low genetic diversity should be considered in the development of culture strains. Eelgrass populations were more structured and four groups were detected; (1) the estuary, (2) the North Shore, (3) the Gaspé Peninsula and (4) the Magdalen Islands. The use of local plants for the restoration of eelgrass beds should be preferred considering this important structuring of populations.

*Keywords:* Population genetics; Microsatellite markers; *Saccharina latissima*; *Zostera marina*; DarTSeq; Genomic markers, St-Lawrence





## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS .....	ix
RÉSUMÉ .....	xi
ABSTRACT.....	xiii
TABLE DES MATIÈRES .....	xv
LISTE DES TABLEAUX .....	xvii
LISTE DES FIGURES .....	xix
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES .....	xxi
INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
CHAPITRE 1 Structure et diversité génétique d'une espèce fondatrice : la laminaire sucrée ( <i>Saccharina latissima</i> ; <i>Phaeophyceae</i> ) dans l'estuaire et le golfe du St- Laurent.....	22
1.1 RESUME.....	22
1.1.1 Mots clés.....	23
1.1.2 Contribution.....	23
1.2 ABSTRACT .....	24
1.2.1 Keywords.....	24
1.3 INTRODUCTION .....	25
1.4 MATERIAL AND METHODS .....	29
1.4.1 Sampling.....	29
1.4.2 Microsatellite markers.....	31
1.4.3 Genomic markers .....	34
1.5 RESULTS.....	35
1.5.1 Microsatellite markers.....	35
1.5.2 Genomic markers .....	40

1.6	DISCUSSION .....	43
CHAPITRE 2 Caractérisation génétique d'une importante espèce fondatrice : la		
zostère marine ( <i>Zostera marina</i> ) de l'estuaire et du golfe du St-Laurent.....		
2.1	RESUME.....	49
2.1.1	Mot-clé .....	50
2.1.2	Contribution .....	50
2.2	ABSTRACT .....	51
2.2.1	Keywords.....	51
2.3	INTRODUCTION .....	52
2.4	MATERIAL AND METHODS .....	55
2.4.1	Sampling.....	55
2.4.2	Microsatellite markers.....	58
2.4.3	Genomic markers .....	59
2.5	RESULTS.....	60
2.5.1	Microsatellite markers.....	60
2.5.2	Genomic markers .....	65
2.6	DISCUSSION .....	68
CONCLUSION GÉNÉRALE.....		72
ANNEXES .....		78
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		87

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Table 1.</b> Sampling sites and their GPS coordinates of <i>Saccharina latissima</i> individuals in the St-Lawrence Gulf and estuary.....	30
<b>Table 2.</b> Statistics indices calculated on 22 microsatellite markers and the 308 individuals of <i>Saccharina latissima</i> in the St-Lawrence River and Gulf. Sample size (n), expected heterozygosity ( $H_E$ ), observed Heterozygosity ( $H_O$ ), the mean number of alleles (Alleles), the mean allelic richness (Allelic Richness), the inbreeding coefficient values ( $F_{IS}$ ), Hardy-Weinberg equilibrium and Heterozygote deficiency.....	36
<b>Table 3.</b> Analysis of molecular variance (AMOVA) using three groups. The first includes TAD, IV, LUD, PUR, NOR, SAM, CAD, GRA, and NEW; the second one is composed of COL, PAS, BON, BONDC, and CASCA, and the third group includes the Magdalen Islands sites (ROO and COR). .....	40
<b>Table 4.</b> Statistics indices calculated on genomic markers and the 229 individuals of <i>Saccharina latissima</i> in the St-Lawrence River and Gulf. Sample size (n ind), number of loci used by pop (n loc), observed heterozygosity ( $H_O$ ), and expected heterozygosity ( $H_E$ ).....	41
<b>Table 5.</b> Sampling sites and their GPS coordinates of <i>Zostera marina</i> individuals in the St-Lawrence Gulf and estuary.....	56
<b>Table 6.</b> Genetic diversity indices calculated on six microsatellite markers and 214 individuals of <i>Zostera marina</i> in the St-Lawrence River and the Gulf. Sample size (n), expected heterozygosity ( $H_E$ ), observed heterozygosity ( $H_O$ ), the mean number of alleles (Alleles), the mean allelic richness (Allelic Richness), the inbreeding coefficient values ( $F_{IS}$ ), Hardy-Weinberg equilibrium and Heterozygote deficiency.....	61
<b>Table 7.</b> Analysis of molecular variance (AMOVA). The first group includes IV, RIKI, LUD, PLT, SI, CAJ, SH, and LTF, and the second one is BG and SS. ....	65
<b>Table 8.</b> Genetic diversity indices calculated on genomic markers scored on 151 individuals of <i>Zostera marina</i> in the St-Lawrence River and Gulf. Sample size (n ind), number of loci used by pop (n loc), observed heterozygosity ( $H_O$ ), and expected heterozygosity ( $H_E$ ).....	66

**Annex 1.** Table of all loci amplified, the multiplex to which they belong, their primer sequences, dye, and repeat motif for *Saccharina latissima* analyses.....78

**Annex 2.** Tables describing the temperature cycles used in PCRs for multiplexes M1, 2, 3, 4, 5 and 6 of *Saccharina latissima*.....81

**Annex 3.** Differentiation index values ( $F_{ST}$ ) per pair of samples calculated on 22 microsatellite markers and the 308 individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence River and Gulf.....82

**Annex 4.** Analyses of molecular variance (AMOVA) using different groups calculated on 22 microsatellite markers and the 308 individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence River and Gulf. ....83

**Annex 5.** Table of all loci amplified, their primer sequences, color, motif, and temperature annealing for *Zostera marina*. ....85

**Annex 6.** Table describing the temperature cycles used in PCRs for all loci for *Zostera marina*. ....86

**Annex 7.** Differentiation index values ( $F_{ST}$ ) per pair of samples calculated on six microsatellite markers and the 214 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence River and Gulf.....86

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.</b> Schéma du cycle de vie de <i>Saccharina latissima</i> tiré de (Visch et al., 2019).....	7
<b>Figure 2.</b> Schéma du cycle de vie de <i>Zostera marina</i> tiré de (Fonseca et Uhrin, 2009) redessiné à partir de (Setchell, 1929). .....	13
<b>Figure 3.</b> Carte des principaux courants présents dans l'estuaire et le golfe du St-Laurent (St- Lawrence Center, 1991).....	17
<b>Figure 4.</b> Map of the 17 sampling sites for <i>Saccharina latissima</i> in the St-Lawrence Gulf and estuary, Quebec, Canada. The shape of symbols refers to the type of genetic marker used for each sample site (microsatellite and genomic markers). The red circle represents the algaculture nursery, and the yellow stars represent algaculture sites.....	31
<b>Figure 5.</b> Discriminant analysis of principal components (DAPC) performed on the 22 microsatellite markers and the 308 individuals of <i>Saccharina latissima</i> in the St-Lawrence. ....	38
<b>Figure 6.</b> Genetic clustering identified by a Bayesian approach in STRUCTURE analysis performed for the 22 microsatellite markers and the 308 individuals of <i>Saccharina latissima</i> in the St-Lawrence River and Gulf. Every bar between two black lines represents an individual in one site. ....	39
<b>Figure 7.</b> Genetic boundary (red line a) positioned by the software BARRIER (version 2.2) based on genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) and Delaunay triangulation of GPS coordinates (thin line). Analysis was performed on the 22 microsatellite markers and the 308 individuals of <i>Saccharina latissima</i> in the St-Lawrence estuary and Gulf.....	39
<b>Figure 8.</b> Principal Coordinate Analysis (PCoA) results based on 7 281 genomic markers from individuals of <i>Saccharina latissima</i> in the St-Lawrence estuary and Gulf. Each point represents an individual, and each color corresponds to one site. ....	42
<b>Figure 9.</b> Genetic clustering identified by a Bayesian approach in STRUCTURE analysis performed on 7 281 genomic markers from individuals of <i>Saccharina latissima</i> in the St-Lawrence estuary and Gulf. Every bar between two black lines represents an individual in one site. ....	43

**Figure 10.** Map of the 10 sampling sites for *Zostera marina* in the St-Lawrence Gulf and estuary, Quebec, Canada. The shape of symbols refers to the type of genetic marker used for each sample site (microsatellite and genomic markers). ..... 57

**Figure 11.** Discriminant analysis of principal components (DAPC) performed on the six microsatellite markers and the 214 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence. .... 63

**Figure 12.** Genetic clustering identified by a Bayesian approach in STRUCTURE analysis performed for the six microsatellite markers and the 214 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence River and Gulf. Every bar between two black lines represents an individual in one site. .... 63

**Figure 13.** Genetic boundaries (red lines) positioned by the software BARRIER (version 2.2) based on genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) and Delaunay triangulation of GPS coordinates (thin line). Analysis was performed on the six microsatellite markers and the 214 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence estuary and Gulf..... 64

**Figure 14.** Principal Coordinate Analysis (PCoA) results based on 2 130 SNP from individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence estuary and Gulf. Each point represents an individual, and each color corresponds to one site..... 67

**Figure 15.** Genetic clustering identified by a Bayesian approach in STRUCTURE analysis performed on 2 130 genomic markers from individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence estuary and Gulf. Every bar between two black lines represents an individual in one site. .... 67

## LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

<b>ADN</b>	Acide DésoxyriboNucléique
<b>AMOVA</b>	Analysis of Molecular Variance (analyse de la variance moléculaire)
<b>DAPC</b>	Discriminant analysis of principal components (analyse discriminante en composante principale)
<b>DNA</b>	DeoxyriboNucleic Acid
<b><math>F_{IS}</math></b>	Coefficient de consanguinité
<b><math>F_{ST}</math></b>	Coefficient de différenciation
<b><math>H_E</math></b>	Hétérozygotie attendue
<b><math>H_O</math></b>	Hétérozygotie observée
<b>PCoA</b>	Principal Coordinates Analysis (analyse en coordonnées principales)
<b>SNP</b>	Single-Nucleotide Polymorphism (polymorphisme d'un seul nucléotide)





## INTRODUCTION GÉNÉRALE

### 1. LES ESPECES FONDATRICES

En écologie, le terme « espèce fondatrice » désigne les espèces importantes soutenant les écosystèmes. Pour qu'une espèce soit considérée comme étant fondatrice, elle doit être abondante en nombres dans l'écosystème et représenter la plupart de la biomasse de celui-ci (Baiser, 2013 ; Ellison, 2019). Ensuite, elle doit être à la base des réseaux d'interaction directionnelle qui caractérisent les écosystèmes (Baiser, 2013 ; Ellison, 2019). Pour finir, elle doit avoir une abondance d'interactions non trophiques ou mutualistes avec d'autres espèces (Baiser, 2013 ; Ellison, 2019). La notion d'espèce fondatrice désignant les espèces à la base des écosystèmes est reconnue depuis de nombreuses années par les écologistes (Dayton, 1975; Ellison et al., 2005; Stachowicz, 2001). Ces espèces se retrouvent aussi bien dans les écosystèmes aquatiques que terrestres. Les coraux formant des récifs abritant une très grande diversité d'organismes sont l'un des exemples les plus connus (Slattery et Lesser, 2021). Les espèces fondatrices peuvent avoir différents rôles, par exemple celui de production primaire, d'aire de reproduction et d'élevage des jeunes, d'aire d'alimentation ou de refuge contre les prédateurs et compétiteurs (Beck et al., 2001; Boesch et Turner, 1984; Carr, 1989). Elles peuvent également protéger leurs espèces associées face à des stress physico-chimiques. Certaines espèces peuvent solidifier les berges (Koch, et al., 2009; Orth et al., 2006), filtrer l'eau (Altieri et Witman, 2006) et peuvent même avoir un rôle majeur dans la séquestration du carbone (Ellison et al., 2005), ce qui implique une importance écologique majeure des espèces fondatrices. Si elles sont fragilisées, c'est tout l'écosystème qui peut entrer en déséquilibre (Ehlers et al., 2008). Certaines espèces fondatrices peuvent aussi avoir une importance économique en supportant certaines espèces commerciales. Par exemple, les

forêts de laminaires permettent aux populations de morue de l'Atlantique de se reproduire et d'élever leurs juvéniles (Norderhaug et al., 2005).

De nombreuses espèces fondatrices sont menacées par les changements globaux (Hemminga et Duarte, 2000) tels que l'augmentation des températures et de la fréquence des catastrophes naturelles, l'élévation du niveau de l'eau et les changements physico-chimiques tels que l'acidification des milieux et les modifications hydrologiques (Logan et al., 2003; Pandolfi et al., 2011; Soares et al., 2012). Par exemple, l'acidification des océans est néfaste pour les organismes calcaires, cela inclut notamment les récifs coralliens qui subissent des pertes de croissance importantes ainsi que de forts déclin (Kiessling et Simpson, 2010). L'aménagement des berges fragilise aussi de nombreuses espèces responsables de leur stabilisation et du soutien de la biodiversité de la région (p. ex. mangroves, zostère) (Hemminga et Duarte, 2000). L'arrivée d'espèces exotiques envahissantes peut décimer les populations endémiques par compétition, prédation ou destruction (Garbary et al., 2014). L'abondance des menaces nécessite l'élaboration de plans de conservation et de gestion des espèces fondatrices.

## **2. LA GENETIQUE DES POPULATIONS**

La diversité génétique est importante pour les espèces fondatrices puisqu'elle peut augmenter la résistance, la résilience et la productivité de tout l'écosystème (Hughes et Stachowicz, 2004; Kamel et al., 2012; Reusch et al., 2005). Dans un contexte de changements globaux, il est important de connaître la capacité de l'organisme à supporter sans perte un changement dans l'environnement qui lui est défavorable et à recouvrer son état initial (Lake, 2013). Ceci correspond à la résistance et la résilience d'une espèce ou d'une population qui sont fortement liées à la diversité génétique présente chez celle-ci (Hughes et Stachowicz, 2004 ; Blondel et al, 2021). La variabilité génétique correspond à l'ensemble des allèles portés par les individus d'une même population ou espèce. La diversité génétique est nécessaire pour faire face à des changements d'origine naturels et anthropiques dans

l'environnement (Ehlers et al., 2008; Lenfant, 2002; Valadon, 2009). Pendant une perturbation, la probabilité d'avoir des individus portant un allèle associé à un trait adaptatif permettant de survivre face à cette perturbation est plus élevée lorsque le bassin génétique (pool génique) de la population est grand. C'est grâce à ce pool génique que l'espèce ou la population a un potentiel adaptatif et évolutif puisque chaque allèle a un potentiel d'être celui qui sera favorable lors d'un changement environnemental. Un trait adaptatif est une caractéristique, pouvant être comportemental, physiologique ou morphologique, qui confère à l'organisme qui le porte soit un avantage de survie ou de reproduction. Ainsi, lors du processus de sélection naturelle, les individus portant l'allèle associé au trait adaptatif favorable vont survivre en plus grand nombre. Si la diversité génétique de la population qui subit une perturbation est très réduite alors la probabilité que le trait adaptatif permettant de survivre à la perturbation soit présent dans le bassin génétique de la population est faible, ce qui met en péril la persistance de la population. Toutes les populations n'étant pas dans les mêmes conditions environnementales et ne subissant pas les mêmes perturbations, les traits adaptatifs favorables et les adaptations locales peuvent être différents d'une population à l'autre.

La diversité génétique peut nous donner des indices essentiels sur la réponse potentielle de l'espèce face à des changements environnementaux, elle va pouvoir être le témoin du passé en aidant, par exemple, à identifier la présence de goulots d'étranglement, de consanguinité ou les refuges glaciaires historiques. Elle va aussi pouvoir informer sur le futur de l'espèce puisqu'elle donne une idée de sa capacité de résilience et de résistance face à des perturbations (Ehlers et al., 2008). L'étude de la structure génétique permet de connaître les différentes populations génétiques présentes dans une aire d'étude et de créer des actions de gestion et de conservation pour conserver le maximum de la diversité de l'espèce. Un objectif important de la gestion et de la conservation est le maintien de la biodiversité, de la résilience et de la résistance des écosystèmes. Cela se fait à travers plusieurs échelles, soit de l'écosystème entier à la diversité génétique de chaque espèce le composant (Glowka et al., 1996; Primack, 2006). Étant donné que la diversité génétique influence le potentiel évolutif d'une espèce, la conservation de cette diversité est essentielle pour lui permettre de survivre

aux changements dans son environnement qui sont de plus en plus fréquents avec les changements globaux et les activités humaines actuelles (Ehlers et al., 2008; Frankham et al., 2002; Lenfant, 2002; Valadon, 2009). La perte de diversité génétique dans une population locale est tout aussi préoccupante que l'est l'extinction d'une espèce (Frankham, 2005). L'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN) a reconnu la variation génétique comme étant prioritaire et faisant partie des trois composantes de la biodiversité à maintenir (diversité des écosystèmes, diversité des espèces et diversité génétique) (Glowka et al., 1996; McNeely et al., 1990). Ainsi, une bonne connaissance de la diversité génétique et de sa structure est capitale pour mettre en place des plans d'action adaptés et efficaces. Pour cela, il ne suffit pas de conserver quelques populations viables, car elles pourraient ne pas représenter la diversité génétique de l'espèce (Glowka et al., 1996; Moran et al., 2016). Il faut identifier la divergence génétique entre les populations, ainsi que la diversité génétique intra et interpopulationnelle et protéger un maximum de diversité génétique présente pour conserver le plein potentiel adaptatif et évolutif de l'espèce (Glowka et al., 1996; Moran et al., 2016). De manière générale, les plans d'action actuels ne prennent pas bien en compte la diversité génétique et son impact sur la réponse de l'espèce face aux variations environnementales. Ils ignorent souvent la variabilité génétique intraspécifique et intrapopulationnelle, car l'étude génétique des espèces est une méthode relativement récente. De plus, elle est beaucoup plus coûteuse et complexe que les outils traditionnels pour obtenir des informations sur la santé et la dynamique des populations comme les observations sur le terrain entre différentes années permettent entre autres de comprendre si l'espèce est en expansion, en diminution ou si elle présente des maladies en comparant leur état actuel à celui passé.

Les patrons de structure et de diversité génétique actuels sont le résultat de différents facteurs cumulés, notamment la biogéographie, la connectivité de l'habitat, les caractéristiques de l'espèce et aussi les événements historiques qui ont affecté celle-ci. Le flux génique ancien résulte d'événements historiques tels que ceux ayant eu lieu à la fin du dernier maximum glaciaire qui ont amené une recolonisation des habitats à partir d'individus ayant évolué en isolement dans un ou plusieurs refuges glaciaires (Bringloe et Saunders,

2018; Neiva et al., 2018). Les signatures de ces évènements passés sont encore présentes dans les génomes des espèces de l'hémisphère nord (Hewitt, 1996). Au niveau contemporain, la dispersion de gamètes ou d'individus entre les populations peut causer un flux de gènes ou flux génique, ce qui va augmenter la connectivité des populations. Le flux génique contribue à la diversité génétique et au degré de différenciation interpopulationnel. Il existe de nombreuses barrières au flux génique comme la distance, des barrières géographiques qui créent un isolement des populations (Slatkin, 1987; Wright, 1943). Cet isolement des populations va diminuer le flux génique et permettre une différenciation génétique des populations (Hewitt, 1996). Ces populations sont soumises à un ensemble de forces évolutives (mutation, dérive génique et la sélection directionnelle naturelle) qui permettent aux populations d'acquérir des trajectoires évolutives uniques (Hey et Machado, 2003). Plus le flux génique est important, plus les fréquences alléliques seront homogénéisées entre les populations (Hewitt, 1996). Les activités humaines modifient le flux génique naturel notamment en créant des barrières infranchissables (ex. barrage) ou en créant un apport massif d'allèles de populations différentes, ce qui peut avoir des conséquences importantes sur la génétique des populations comme la dilution génétique.

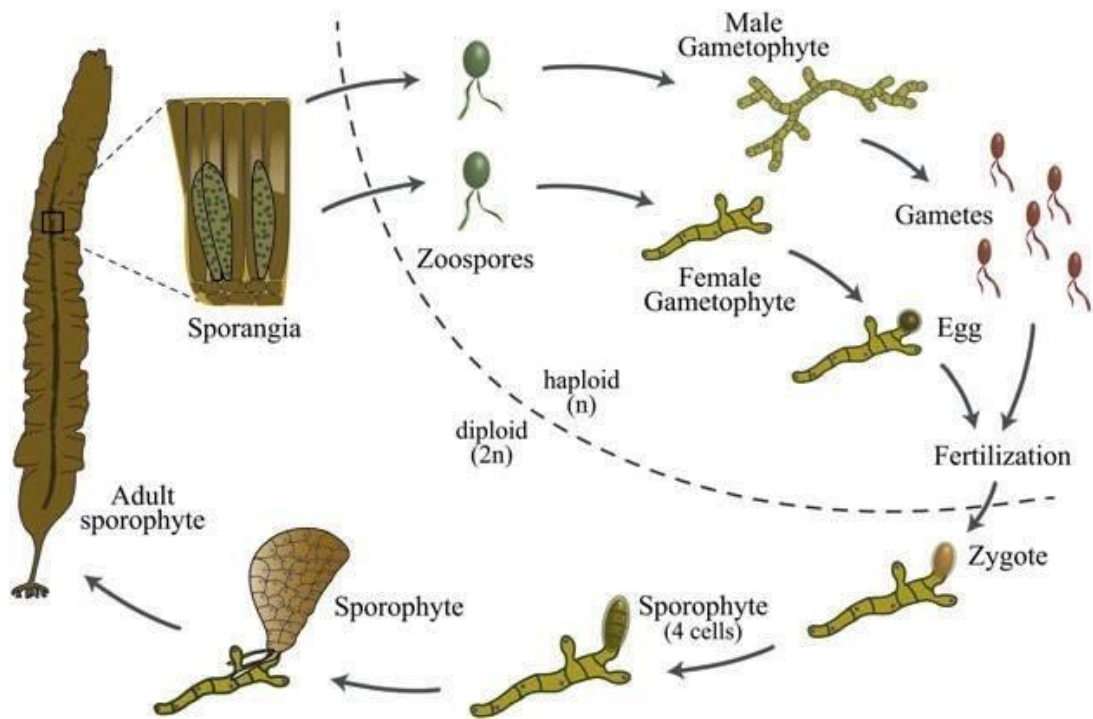
Dans un cadre de culture, comme pour *S. latissima*, l'étude de la génétique des populations permet d'évaluer la présence de risques de contamination génétique. La contamination génétique correspond à l'introduction massive de nouveaux allèles mal adaptés au sein des populations sauvages. Ainsi, une partie du bassin génique, qui est une composante essentielle à la survie de l'espèce sur le long terme, pourrait être perdue. Les études de génétique des populations peuvent apporter beaucoup d'informations pertinentes sur les souches utilisées en éclosion ainsi que les risques de consanguinité qui pourraient entraîner une perte pour l'industrie algocole. En effet, les outils génétiques et génomiques peuvent permettre de déterminer les allèles responsables de traits phénotypiques intéressants ou problématiques. Ainsi cela pourrait permettre de choisir des géniteurs avec des profils génétiques favorables à la demande de l'industrie de cette espèce (p. ex. une maximisation de la biomasse produite par un individu) ou éviter la consanguinité et les maladies génétiques.

### 3. MODELES D'ETUDE

#### 3.1 *Saccharina latissima*

##### 3.1.1 Biologie de *Saccharina latissima*

La laminaire sucrée (*Saccharina latissima*) est retrouvée dans les eaux tempérées et polaires de l'hémisphère nord (Neiva et al., 2018), à une profondeur allant de 2,5 à 20-25 m (Bartsch et al., 2008; Borum et al., 2004; Hanelt, 1998). C'est une algue brune de la famille des *Laminariaceae* et de la classe des *Phaeophyceae* (Bolton et al., 1983; Lane et Saunders, 2005). Cette espèce a, par le passé, été appelée *Laminaria saccharina*. C'est une algue qui se compose d'une longue fronde pouvant aller jusqu'à 4 mètres, d'un stipe et d'un crampon (Borum, et al., 2004). Ce dernier lui permet de s'implanter sur des fonds rocheux à l'abri des fortes vagues (Bekkby et Moy, 2011; Bernier et al., 2018). Cette espèce se reproduit de façon sexuée (**Figure 1**) : les zoospores (haploïde : N) sont produites par les sporanges placés au centre de la fronde de l'algue (Visch et al., 2019). Ces spores se développent en gamétophytes mâles et femelles qui produisent ensuite des gamètes (N). Après la fécondation, un zygote (diploïde : 2N) est produit et deviendra un sporophyte, puis celui-ci mûrira pour pouvoir se reproduire à son tour (Visch et al., 2019). Les spores, les gamètes et les zygotes produits sont dispersés par des courants marins. Les macroalgues ont une capacité de dispersion pouvant aller de quelques mètres à quelques kilomètres (Billot et al., 2003; Reed et al., 1992). Ce procédé de dispersion dépend de plusieurs facteurs tels que la nature des courants marins et la connectivité de l'habitat (Alberto et al., 2010; Billot et al., 2003; Coleman et al., 2011) et affecte grandement la génétique des populations de laminaires sucrées (Durrant et al., 2018; Valero et al., 2011).



**Figure 1.** Schéma du cycle de vie de *Saccharina latissima* tiré de (Visch et al., 2019)

### 3.1.2 Rôles écologiques et économiques de *Saccharina latissima*

La laminaire sucrée, comme un grand nombre d'espèces de kelps, forme des grands rassemblements d'individus qui sont le refuge d'une grande diversité d'espèces (Dayton, 1985; Gaines et Roughgarden, 1987; Smale et al., 2013). Ces forêts de kelps participent à l'atténuation des vagues ainsi qu'à la séquestration de carbone (Falkenberg et al., 2012), et elles fournissent des pouponnières, des refuges et des aires d'alimentation à de nombreuses espèces marines (Bolton, 2010; Dayton, 1985; Gaines et Roughgarden, 1987; Smale et al., 2013; Trebilco et al., 2015). Toutes ces fonctions lui confèrent le statut d'espèce fondatrice d'importance écologique majeure. Les laminaires sucrées ont aussi une importance économique puisqu'elles servent d'aire de reproduction et d'élevage des juvéniles d'espèces très prisées par la pêche commerciale comme pour la morue d'Atlantique (*Gadus macrocephalus*) (Efird et Konar, 2014). Elle est aussi traditionnellement prélevée et utilisée

par les peuples autochtones au Canada (Kuhnlein et Turner, 2020). Cette algue est collectée en agriculture et en horticulture pour fertiliser la terre. Actuellement, *S. latissima* est utilisée dans plusieurs secteurs commerciaux, par exemple, dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique, alimentaire et des biocarburants (Bartsch et al., 2008; Forbord et al., 2012; Jahan et al., 2017; Marinho et al., 2015). Pour cette raison, *S. latissima* est, comme beaucoup d'espèces de kelps, cultivée dans de nombreuses régions du monde, notamment au Maine (USA), en France et c'est le cas au Québec depuis 1992 (Augyte et al., 2017; Campbell et al., 2019; Goecke et al., 2020; Hwang et al., 2019; Tamigneaux et Johnson, 2016).

### 3.1.3 Méthodes de culture de *Saccharina latissima*

Historiquement, l'algoculture était une pratique essentiellement asiatique. Dans les pays occidentaux comme les pays européens, les algues étaient récoltées sur les littoraux depuis le 17<sup>e</sup> siècle, mais le développement de méthodes de culture date du début du 20<sup>e</sup> siècle avec l'augmentation de la demande avec l'arrivée des usines de transformation des kelps. La culture de la laminaire sucrée a débuté au Québec en 1992, dans le but d'augmenter la qualité et le rendement des récoltes et ainsi répondre à la demande du marché en constante augmentation (Tamigneaux et Johnson, 2016). Les premiers essais ont été faits par l'Institut national de la recherche scientifique-océanographique à Pointe-au-Père (Marsot et Fournier, 1992). En 2006, c'est à Paspébiac, dans la baie des Chaleurs, que la culture de laminaires sucrées a débuté par l'entreprise Les Gaspésiennes-algues et l'Institut Maurice-Lamontagne du Ministère Pêche et Océan Canada (Gendron et al., 2007). Cette même année, le cégep de la Gaspésie et des Îles a commencé la production de laminaire en bassin. Par la suite, de nombreux essais de culture ont permis une meilleure maîtrise des techniques d'écloserie et de ferme marine, ainsi qu'à l'adaptation des méthodes aux conditions climatiques du St-Laurent permettant l'augmentation du rendement (Gendron et Tamigneaux, 2008; Gendron et al., 2010; Tamigneaux et al., 2009, Tamigneaux et al., 2011; Tamigneaux et al., 2013). La préparation des filières (plantules accrochées le long de cordes) prend environ une à cinq



semaines en préculture en bassin et celles-ci vont ensuite être placées en mer pendant une période de huit à dix mois pour obtenir des frondes d'environ trois mètres (Tamigneaux et Johnson, 2016; Tamigneaux et al., 2013). Les filières sont récoltées normalement avant la maturation des sporophytes accrochés aux filières. Depuis 2014, d'autres sites de culture ont été mis en place dans plusieurs régions maritimes du St-Laurent, comme le long de la côte gaspésienne, à Sept-Îles et aux Îles-de-la-Madeleine (Tamigneaux et Johnson, 2016). Au Québec, l'écloserie marine de la Gaspésie a été mise en place par Fermes Marines du Québec et Merinov. Elle produit des plantules sur corde de *Saccharina latissima* depuis 2014 et les vend à des aquaculteurs québécois depuis 2017. L'écloserie commerciale ensemence les cordes avec des spores provenant seulement d'algues sauvages récoltées chaque année à Bonaventure (Gaspésie, Québec) (Tamigneaux et Johnson, 2016). Les producteurs de filières ont choisi des algues de Gaspésie, car elles ont une croissance rapide. Ainsi, elles sont plus intéressantes pour les entreprises de transformation qui préfèrent des individus ayant de longues frondes. Pour cette raison, toutes les entreprises d'algoculture du Québec utilisent des plantules provenant de reproducteur du site de Bonaventure en Gaspésie, quel que soit leur emplacement géographique (Tamigneaux et Johnson, 2016). Ces méthodes de culture ont été mises en place sans étude préalable sur la génétique des populations de *S. latissima* dans le St-Laurent. Cela pourrait poser un problème puisque des individus sont déplacés sur des centaines de kilomètres sans avoir évalué les risques génétiques que cela pourrait entraîner sur les populations sauvages voisines et sur la persistance de l'espèce dans le St-Laurent.

Les entreprises algocoles tentent de récolter les laminaires qu'ils produisent sur leur ferme avant l'émission de spores (Tamigneaux et Johnson, 2016). Cela réduit les risques de contamination génétique des populations sauvages avoisinantes, cependant ce risque demeure à envisager. Lors de la culture de laminaires, il est possible que des plantules se décrochent des cordes en cours de culture et se retrouvent dispersées dans le milieu naturel autour des sites de culture. Ces plantules ne seront jamais ramassées, deviendront matures et pourront se reproduire avec les populations sauvages. De plus, dans le golfe du St-Laurent, il n'est pas rare d'observer des macroalgues brunes dérivantes. Ces algues sont arrachées du

fond souvent après une tempête. Elles peuvent parcourir de grande distance et libérer leur spore loin de leur site d'origine. Ce flux génique entre les populations sauvages est normal, mais la présence de filières contenant de nombreux individus de populations plus lointaines pourrait avoir des conséquences sur les populations sauvages locales. Aucune étude n'a été faite à ce jour pour investiguer les conséquences de ces méthodes sur la structure et la diversité génétique des populations sauvages de laminaire sucrée dans le St-Laurent. Une investigation de ce type pourrait permettre d'aider les écloséries qui souhaitent avoir une banque de souche diversifiée et éviter les problèmes de consanguinité qui pourraient avoir un effet néfaste sur le rendement des fermes algocoles.

#### 3.1.4 Génétique des populations de *Saccharina latissima*

Plusieurs études génétiques sur *Saccharina latissima* ont été menées sur une grande partie de son aire de répartition (Breton et al., 2018; Guzinski et al., 2020; Møller Nielsen et al., 2016; Neiva et al., 2018). Une étude à l'échelle globale effectuée à l'aide de microsatellites et de séquences CO1 a identifié quatre groupes différenciés à travers l'aire de répartition : (1) l'Arctique (2) l'Atlantique Est (3) l'Atlantique Ouest et (4) le Pacifique (Neiva et al., 2018). À une échelle plus fine, cette espèce peut être très structurée (Breton et al., 2018; Møller Nielsen et al., 2016). Dans le Maine, sur la côte Atlantique ouest, des sites espacés de moins de 30 kilomètres étaient génétiquement différenciés (Breton et al., 2018). Les auteurs recommandent d'utiliser des géniteurs locaux pour ne pas mélanger des individus provenant de différents sites et ainsi créer de contamination génétique qui pourrait conduire une dilution d'allèles localement adaptés (Breton et al., 2018). Guzinski et al. (2020) ont démontré une forte structuration des *S. latissima* révélée par des marqueurs génomiques et microsatellites dans onze sites européens. Les quatre sites situés en Bretagne, espacés d'une centaine de kilomètres, étaient tous différenciés par les marqueurs génomiques. Aucune étude génétique spécifique au St-Laurent n'a encore été menée pour la laminaire sucrée.

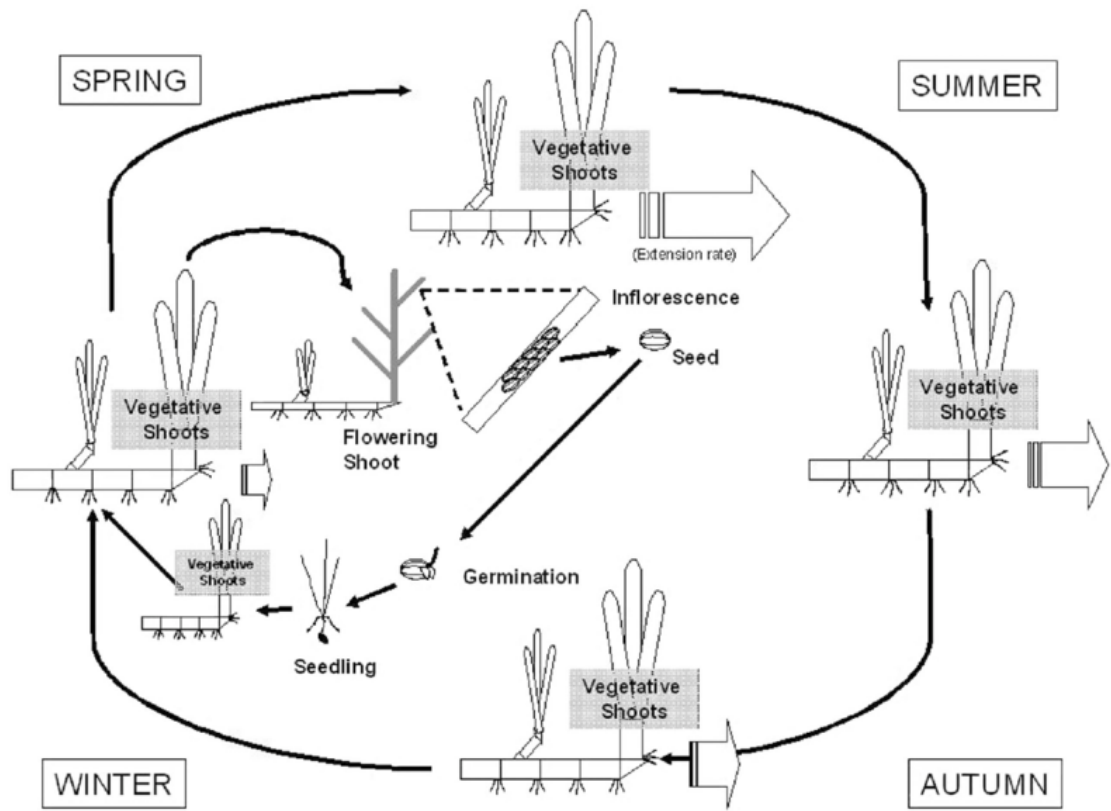
## 3.2 *Zostera marina*

### 3.2.1 Biologie de *Zostera marina*

La zostère marine (*Zostera marina*) est retrouvée dans les océans Pacifique et Atlantique dans les eaux tempérées essentiellement. Ces herbiers peuvent aussi bien se trouver dans le milieu médiolittoral qu'infralittoral (Hemminga et Duarte, 2000). On l'observe entre autres le long des côtes japonaises, européennes et américaines (Borum et al., 2004; Green et Short, 2003). Sa limite de répartition nordique se trouve en Arctique et est liée à la couverture glaciaire (Backman, 1991; Murphy et al, 2021). La limite sud de la répartition des zostères est associée aux températures élevées qui empêchent la croissance de cette espèce (Backman, 1991). Il s'agit d'une plante angiosperme monoïque de la classe *Magnoliopsida* et de la famille (Den Hartog, 1970; Green et Short, 2003). Cette plante va créer des rassemblements d'individus sur les sols meubles dans les eaux côtières (Den Hartog, 1970; Green et Short, 2003; Hemminga et Duarte, 2000). Ces rassemblements sont nommés herbiers et vont avoir un rôle écologique primordial, ce qui leur confère le qualificatif d'espèces fondatrices (MPO, 2009).

Chaque individu de zostère se compose de longues feuilles, de racines et de rhizomes. C'est une plante qui présente des fleurs mâles et femelles sur le même pied. Les fleurs femelles deviennent, après fécondation, des fruits (Hemminga et Duarte, 2000). La zostère marine peut utiliser deux stratégies de reproduction distinctes (De Cock, 1980; Phillips et al., 1983) (**Figure 2**). La reproduction végétative (asexuée) permet à la plante de créer des clones identiques à partir de ses rhizomes autour d'elle-même (Phillips et al., 1983). Cette stratégie de reproduction a généralement lieu tout au long de l'année avec une croissance beaucoup plus importante au printemps et en été. Cependant, dans les zones boréales, arctiques et subarctiques la reproduction végétative n'a pas lieu l'hiver puisque les herbiers se retrouvent recouverts de glace. La reproduction sexuée va faire intervenir une production de fleurs mâles et femelles, produites par les plants adultes pendant le printemps (Setchell, 1929). Au cours

de la saison estivale, les fleurs femelles vont être pollinisées et créer des fruits puis des graines (De Cock, 1980; Hemminga et Duarte, 2000). Les graines seront ensuite transportées par les courants marins. Elles s'implanteront sur un sol meuble et germeront pour former de nouveaux plants de zostères (Setchell, 1929). Certaines graines contiennent une bulle de gaz, ce qui leur permet d'avoir une flottabilité neutre et ainsi être dispersées sur de plus longues distances, pouvant aller jusqu'à plusieurs centaines de kilomètres. Contrairement à la reproduction végétative, cette dispersion de graines permet un brassage des gènes entre des sites parfois très éloignés. La proportion d'utilisation de ces deux stratégies de reproduction est influencée par des facteurs abiotiques tels que la température et la salinité (Phillips et al., 1983). Ainsi, le flux génique entre les différentes populations est lié à l'importance relative de la reproduction sexuée à l'intérieur de chaque population et à la nature des facteurs abiotiques affectant la pollinisation et la dispersion des graines (Reusch, T. et al., 2000).



Redrawn from Setchell 1929

**Figure 2.** Schéma du cycle de vie de *Zostera marina* tiré de (Fonseca et Uhrin, 2009) redessiné à partir de (Setchell, 1929).

### 3.2.2 Stress subi par *Zostera marina*

La zostère marine subit de nombreux stress environnementaux au niveau global, qu'ils soient d'origine naturelle ou anthropique (Auby et al., 2011; Boström et al., 2014; Jahnke et al., 2018). Dans les années 1930, la zostère marine a été atteinte d'une maladie nommée « wasting disease ». Il s'agit d'une maladie causée par un protozoaire (*Labyrinthula zosterae*) qui a décimé une très grande partie des herbiers sur l'entièreté de l'aire de répartition (Rasmussen, 1977). Cette maladie cause des lésions brunes sur les feuilles qui empêchent la

photosynthèse dans la partie touchée. Une fois infecté, cela prend quelques semaines pour que le plant entier soit touché et meurt (Short et al., 1988; Vergeer et Den Hartog, 1994). Cette maladie a entraîné une perte de 90 % des herbiers sur les côtes nord-américaines dans les années 1930 (Den Hartog, 1970; Muehlstein, 1989; Muehlstein et al., 1991). Ce protozoaire est encore présent aujourd'hui et continue d'affecter les zostères à une échelle plus locale (Short et al., 1988; Short et al., 1986). Plusieurs événements météorologiques et géologiques peuvent détériorer les herbiers de zostères, par exemple les éruptions volcaniques, les cyclones ou les ouragans (Poiner, 1989; Short et Wyllie-Echeverria, 1996). Un déclin naturel des zostères peut aussi être entraîné par l'augmentation de la densité d'herbivore (Zimmerman et al., 1996). Les facteurs de stress anthropiques sont importants et de plus en plus présents pour la zostère marine. Par exemple, l'eutrophisation, l'envasement ainsi que le déversement de substances chimiques toxiques sont des problèmes récurrents dans les zones côtières et provoquent de forts déclin chez les plantes marines (Fortes, 1988; Nixon, 1995; Short et Wyllie-Echeverria, 1996). Les changements globaux ont eux aussi un impact négatif sur les herbiers de zostères avec l'augmentation de la température des eaux de surface qui, dans certaines régions, ne permet plus de la croissance optimale des zostères (Ehlers et al., 2008; Hemminga et Duarte, 2000). L'arrivée d'espèces exotiques envahissantes peut aussi provoquer un stress chez les plantes marines (herbivores, parasites, compétiteurs) (Hemminga et Duarte, 2000; Martínez-Lüscher et Holmer, 2010; Meinesz et Hesse, 1991). Par exemple, en Nouvelle-Écosse (Canada), le crabe enragé (*Carcinus maenas*), originaire d'Europe, est le responsable de la chute de la densité des herbiers de zostère, où il cherche de la nourriture en creusant et en déracinant les herbiers (Garbary et al., 2014).

### 3.2.3 État de *Zostera marina*

Actuellement, les déclin de zostères persistent dans le monde. Au Danemark, les zostères représentent seulement 10 à 20 % de leur aire de distribution historique (Boström et al., 2014). En Suède, sur la côte de Skagerrak, plus de 60% des herbiers ont disparu depuis les années 1980 (Jahnke et al., 2018). En France et aux États-Unis, les déclin sont similaires (Auby et al., 2011; Koch, et al., 2009). En Nouvelle-Écosse (Canada), dans le sud du golfe du St-Laurent ainsi que dans l'Atlantique, une diminution des herbiers de zostères est observée (Garbary et al., 2004; MPO, 2009). Cependant, dans l'estuaire et le nord-ouest du golfe du St-Laurent, les populations de zostères semblent plutôt stables et même en expansion (Martel et al., 2009). Malgré ce problème de diminution généralisée des zostères et la différence du St-Laurent avec le reste de l'aire de répartition de l'espèce, la génétique des populations du St-Laurent n'a pas été examinée à ce jour.

### 3.2.4 Génétique des populations de *Zostera marina*

Plusieurs études ont caractérisé la génétique des populations des zostères marines sur l'ensemble de leur aire de répartition (Diekmann et Serrao, 2012; Kamel et al., 2012; Reusch et al., 2000). Les populations provenant de hautes latitudes ont une plus grande diversité génétique que celles plus au sud (Diekmann et Serrao, 2012). Cette relation serait influencée par les conditions climatiques, les populations du sud sont très petites et séparées par un environnement inapproprié contrairement aux populations du nord qui sont plus étendues. Les populations à la limite sud de la répartition de la zostère subissent donc une plus forte dérive génétique et ont un flux génique plus faible ce qui expliquerait leur forte différenciation et leur faible diversité génétique (Diekmann et Serrao, 2012). La distance géographique est liée à et la distance génétique, les individus les plus distants géographiquement sont plus éloignés génétiquement ce qui est lié à la capacité de dispersion et à la connectivité de l'habitat (Kamel et al., 2012; Reusch et al., 2000). Une étude effectuée

à l'aide de marqueurs microsatellites sur une grande partie de l'aire de répartition des zostères, montre la présence de quatre grands clades : (1) la Nouvelle-Écosse (2) la mer du Nord (3) la mer baltique et (4) la côte française (Reusch, T. et al., 2000). À une échelle plus fine, des sites de *Zostera marina* espacés de quelques dizaines de kilomètres (30-50 km) peuvent être génétiquement différenciés, c'est notamment le cas en Bretagne et au Japon par exemple (Becheler et al., 2010; Tanaka et al., 2011). Aucune étude génétique n'a été encore été réalisée chez les zostères du St-Laurent.

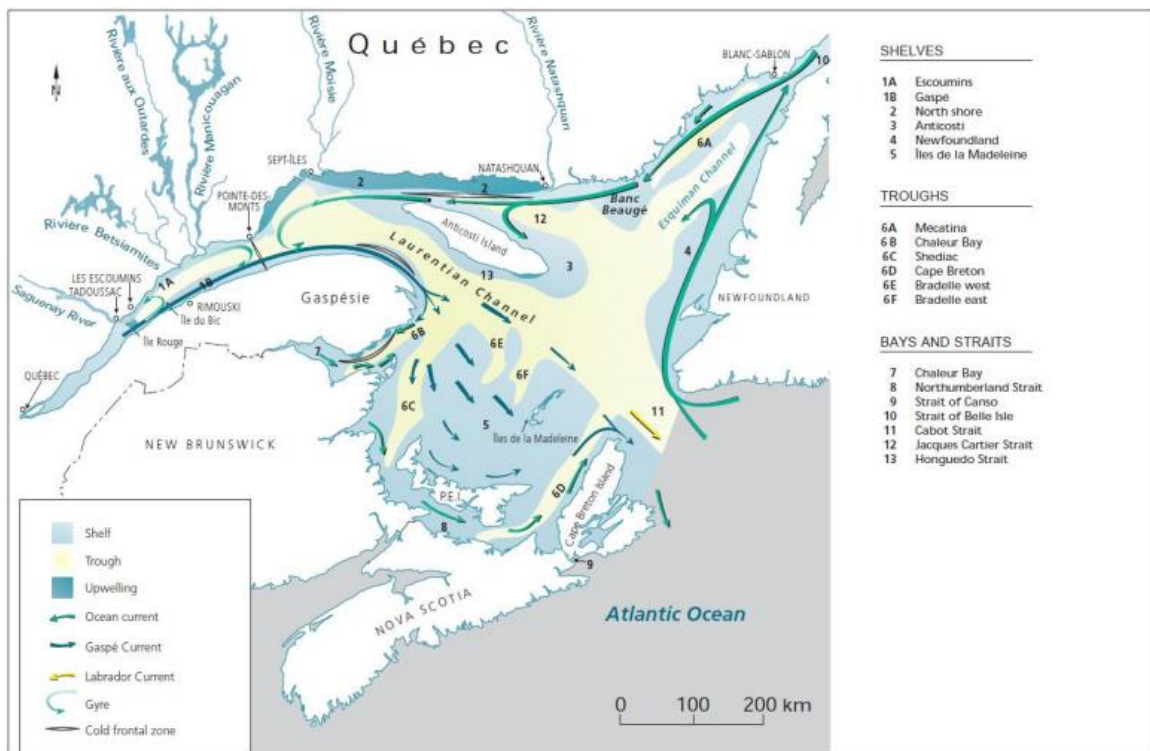
## **4. LE ST-LAURENT**

### **4.1 Hydrographie**

Le St-Laurent est un système hydrologique constitué de plusieurs secteurs hydrographiques, basé sur la salinité de l'eau, la présence de marées et la dimension de l'étendue d'eau. Le premier secteur est le tronçon fluvial, appelé aussi fleuve, qui s'étend de Kingston (Ontario) jusqu'au lac St-Pierre (Québec) (Plan d'action St-Laurent, 2022). Cette section est constituée d'eau douce, provenant des Grands Lacs et de tributaires. Cette section n'est pas influencée par les marées. Entre le Lac St-Pierre et la pointe est de l'île d'Orléans (Québec), c'est l'estuaire fluvial qui est retrouvé. Ce secteur est lui aussi constitué d'eau douce, cependant il est soumis aux marées (Plan d'action Saint-Laurent, 2022). En aval se retrouve l'estuaire moyen qui est délimité par l'île d'Orléans et l'embouchure de la rivière Saguenay. L'eau qui s'y retrouve est saumâtre puisque l'estuaire moyen constitue le lieu de rencontre entre l'eau douce provenant du fleuve et l'eau salée provenant du golfe (Plan d'action Saint-Laurent, 2022). L'estuaire maritime se retrouve en aval de l'estuaire moyen, il est constitué d'eau salée et subie les marées. Le golfe du St-Laurent est retrouvé en aval de l'estuaire, il s'agit d'une mer intérieure allant jusqu'à 500 mètres de profondeur qui relie l'océan Atlantique à l'estuaire. Tout ce système hydrographique accueille une grande diversité d'écosystèmes et donc une grande richesse biologique (Plan d'action Saint-Laurent,



2022). Les principaux courants marins présents dans le système du St-Laurent sont bien connus (**Figure 3**) (St-Lawrence Center, 1991). Le courant gaspésien commence dans l'estuaire et suit la côte gaspésienne et la côte sud du golfe jusqu'à se dissiper près des Îles-de-la-Madeleine. Dans l'estuaire et le golfe, plusieurs gyres existent notamment dans l'estuaire maritime. L'eau salée retrouvée dans le système hydrologique provient de l'océan Atlantique et entre dans le golfe de part et d'autre de l'île de Terre-Neuve (St-Lawrence Center, 1991).



**Figure 3.** Carte des principaux courants présents dans l'estuaire et le golfe du St-Laurent (St-Lawrence Center, 1991).

## 4.2 Hydrographie

Dans le St-Laurent, il existe de nombreux courants marins qui fluctuent à travers l'espace et le temps, notamment dans les eaux de surface (jusqu'à 40 m de profondeur) (Archambault et al., 2017). Les principaux courants ont été décrits grâce à des méthodes statistiques qui ont permis de faire la moyenne des courants sur une longue période de temps. Cette simplification est essentielle pour être en mesure de comprendre et interpréter les résultats, bien qu'une partie de l'information sur les conditions instantanées soit perdue (Archambault et al., 2017). D'abord, dans l'estuaire, l'apport en eau douce par le fleuve et les rivières va diriger les eaux de surface de l'amont vers l'aval. La marée va créer des courants en va-et-vient dans toute la colonne d'eau (Archambault et al., 2017). Dans cette région, on retrouve aussi un phénomène que l'on appelle la pompe estuarienne, il s'agit d'un effet de succion des couches intermédiaire froide et profonde qui appelle l'eau de l'aval à l'amont dans le chenal Laurentien (Archambault et al., 2017). Ceci est dû à la stratification de l'eau dans l'estuaire et au mélange graduel de l'eau douce de la couche de surface avec l'eau salée des couches inférieures (Archambault et al., 2017). Dans le golf, il existe plusieurs forts courants permanents, présents tout au long de l'année. Le courant de Gaspé est un courant qui prend sa source dans l'estuaire et qui longe la côte sud de l'estuaire, le long de la péninsule gaspésienne vers le plateau des Îles-de-la-Madeleine (Savenkoff et al, 1996). Un autre courant permanent se trouve le long de la côte ouest de Terre-Neuve, il débute dans l'atlantique au sud de l'île jusqu'au détroit de Belle Isle (Archambault et al., 2017). Un autre courant est retrouvé longeant la côte nord provenant de l'océan atlantique par le détroit de Belle Isle (Archambault et al., 2017). Ce courant se déplace jusqu'au courant circulaire à l'ouest de l'île d'Anticosti au sud de Sept-Îles, il s'agit du gyre d'Anticosti. D'autres tourbillons non permanents sont présents dans le St-Laurent (tourbillons de Rossby), mesurant des dizaines de km de diamètre et se déplaçant à travers le golf (Archambault et al., 2017).

### 4.3 Connaissance génétique dans le St-Laurent

Dans le St-Laurent, plusieurs études de génétiques des populations ont été effectuées surtout sur des espèces animales. Une étude sur la structure populations de homard d'Amérique (*Homarus americanus*), à l'aide de marqueurs microsatellites, a démontré que le homard d'Amérique était très peu différencié dans le St-Laurent, puisque tous les sites de cette région (à l'exemption d'un site) faisaient partie de la même population génétique (Dorant et al., 2022). Cela contraste avec la côte des États-Unis qui présentent une plus grande structure pour cette espèce (Kenchington et al., 2009). Une étude plus récente utilisant des marqueurs génomiques a également déterminé que le homard du St-Laurent démontre peu de structure pour de la variation génétique neutre (Benestan et al., 2015). Par contre, lorsque la variation adaptative est prise en compte, des groupements entre les populations du nord et du sud du golfe peuvent être mis en évidence (Dorant et al. 2022). Cette cassure nord-sud a été identifiée chez la crevette nordique *Pandalus borealis* et la morue franche *Gadus morua* (Stanley et al. 2018). Certaines espèces peuvent être très différenciées dans ce même milieu. Par exemple, pour le gammare (*Gammarus oceanicus*), il existe huit groupes distincts dans le St-Laurent (Radulovici, 2012). Ils se séparent géographiquement comme suit : (1) l'estuaire (2) la péninsule gaspésienne (3) le sud du golfe (4) l'Île-du-Prince-Édouard (5) les Îles-de-la-Madeleine (6) la Côte-Nord (7) l'ouest de Terre-Neuve et (8) l'est de Terre-Neuve (Radulovici, 2012). Une autre espèce comme l'éperlan arc-en-ciel a une structure qui semble liée à la salinité (Bernatchez, 1997). En effet, il existe deux populations génétiques dans le St-Laurent, une occupant les eaux douces tandis que l'autre se retrouve dans l'eau salée (Bernatchez, 1997). Cela montre l'importance des conditions environnementales sur la structure génétique des espèces. Aucune étude génétique n'a encore été effectuée sur les plantes marines et les algues au St-Laurent. C'est une lacune que la présente étude cherche à combler.

## 5. OBJECTIFS, HYPOTHESES ET PREDICTIONS

Le projet de recherche vise à étudier la dynamique des populations de deux espèces fondatrices en se concentrant sur leurs patrons de structure et de diversité génétique. Ces patrons seront déterminés chez les populations de zostères marines (*Zostera marina*) et de laminaires sucrées (*Saccharina latissima*) du St-Laurent dans le but de (i) caractériser le patrimoine génétique des populations naturelles des deux espèces (ii) détecter les effets de l'algoculture sur la potentielle contamination génétique des populations sauvages de laminaires sucrées et de (iii) caractériser les niveaux de base de diversité génétique afin de servir de point de comparaison à des études futures pour valider d'éventuelles pertes de diversité génétique.

**Hypothèse commune aux deux espèces.** La structure génétique des populations de laminaires et de zostères suit le patron des courants marins du St-Laurent puisqu'ils sont majoritairement responsables de la dispersion de ces deux espèces.

**Prédiction commune aux deux espèces.** Comme le gyre d'Anticosti est situé au large de la Côte-Nord, les sites s'y trouvant seront différenciés des autres sites à l'extérieur du gyre. Puisque le courant de Gaspé lie l'estuaire, le nord de la Gaspésie et les Îles-de-la-Madeleine de l'amont à l'aval, les sites de ces zones appartiendront à la même population génétique, avec une meilleure diversité à l'aval du courant. Le sud de la Gaspésie étant isolé, les sites de cette région formeront une population distincte des autres (St-Lawrence Center, 1991).

**Hypothèse *Saccharina latissima*.** Les individus de *S. latissima* pouvant se décrocher des filières lors de leurs cultures, il est possible qu'il y ait de la contamination génétique par les individus cultivés à partir de géniteurs de Bonaventure dans la population de Sept-Îles (si les sites où se déroule la culture de laminaires sont génétiquement différenciés de ceux de l'écloserie).

**Prédiction *Saccharina latissima*.** S'il y a eu de la contamination génétique, alors on s'attend à ce que les sites proches des sites de culture soient génétiquement plus proches des laminaires de Bonaventure que des sites avoisinants.

Les résultats de ce projet sont importants pour combler une lacune fondamentale sur la génétique des populations d'algues et de plantes marines dans le St-Laurent. De plus, nous souhaitons mettre en lumière des informations génétiques essentielles qui pourraient aider à la création de plans de conservation, de gestion et de culture (dans le cas de *S. latissima*) adaptés à la réalité de ces deux espèces essentielles au Québec.

**CHAPITRE 1**  
**STRUCTURE ET DIVERSITE GENETIQUE D'UNE ESPECE FONDATRICE :**  
**LA LAMINAIRE SUCREE (*SACCHARINA LATISSIMA* ; *PHAEOPHYCEAE*)**  
**DANS L'ESTUAIRE ET LE GOLFE DU ST-LAURENT**

Cet article, intitulé « Genetic structure and diversity of an essential founding species: a tool for the management of the sugar kelp (*Saccharina latissima*; *Phaeophyceae*) from the estuary and the Gulf of St-Lawrence », est en voie d'être soumis pour une publication.

**1.1 RESUME**

Connaître la structure génétique des populations est essentiel pour la gestion et la conservation des espèces, notamment pour les espèces fondatrices telles que *Saccharina latissima*. Au Québec, cette espèce est cultivée sur plusieurs sites à partir de méiospores provenant d'un seul emplacement. Cette méthode d'algoculture pourrait impliquer des risques de contamination génétique si les individus cultivés sont génétiquement distincts des populations sauvages à proximité des filières de culture. Malgré ces risques, aucune étude n'a été effectuée pour caractériser la structure et la diversité génétique de *S. latissima* dans le St-Laurent. La présente étude a pour but de caractériser la diversité génétique et la structure génétique des populations sauvages de *S. latissima* de l'estuaire et du golfe du St-Laurent, grâce à des marqueurs microsatellites et génomiques. L'ADN a été extrait à partir de sporophytes adultes sauvages provenant du St-Laurent. Des loci microsatellites spécifiques à *S. latissima* ont été amplifiés ainsi que des marqueurs génomiques (DarTSeq). Les analyses de différenciation sur les marqueurs génomiques ont montré la présence de trois groupes qui suivent un patron géographique (1) l'estuaire et le nord de la Gaspésie, (2) la Côte-Nord et (3) la Baie-des-Chaleurs et les Îles-de-la-Madeleine. Les laminaires du St-Laurent avaient

une faible diversité génétique et plusieurs populations étaient consanguines. Les laminaires de Sept-Îles étaient génétiquement distinctes pour des loci neutres de celles de la population d'élevage (Bonaventure). Aucun signe de contamination génétique n'a été détecté à proximité du site d'algoculture. Nous recommandons cependant de privilégier les individus des mêmes sites pour les mises en filières afin de préserver d'éventuelles adaptations locales.

### 1.1.1 Mots clés

Génétique des populations ; Marqueurs microsatellites ; *Saccharina latissima* ; DarTSeq ; Marqueurs génomiques, St-Laurent

### 1.1.2 Contribution

	<b>Marie</b>	<b>France</b>
<b>Manipulation en laboratoire</b>	X	X
<b>Résultats</b>	X	
<b>Rédaction</b>	X	
<b>Correction</b>		X
<b>Gestion du projet</b>		X

**Genetic structure and diversity of an essential founding species: a tool for the management of the sugar kelp (*Saccharina latissima*; *Phaeophyceae*) from the estuary and the Gulf of St-Lawrence.**

## **1.2 ABSTRACT**

The knowledge of the genetic structure of populations is essential for species conservation and management, especially for founding species like *Saccharina latissima*. In Quebec, this species is cultivated in different locations from meiospores coming from a single location. This algaculture method could involve contamination risks if cultivars are genetically different from wild populations near the cultivation sites. Despite these risks, no thorough investigation has yet been made on the population's genetics of *S. latissima* in the St-Lawrence. This study aimed to characterize the genetic diversity and structure of wild populations of *S. latissima* from St-Lawrence's Gulf and estuary using microsatellite and genomic markers. Specific microsatellite loci for *S. latissima* were amplified and genomic analyses (DartSeq) were carried out. The microsatellite data failed to reveal significant structure but genomic markers enabled the characterization of three groups: (1) the estuary and the Northern Gaspesian Peninsula, (2) the North Shore, and (3) the Chaleurs Coast and the Magdalen Island. The St-Lawrence populations had low genetic diversity, and significant inbreeding coefficients were in most sites. The current algaculture techniques in Quebec put North Shore wild populations at risk of genetic contamination. The use of cultured individuals with no genetic differentiation from wild strains where they will be implanted could help to maintain the natural genetic diversity in the St-Lawrence.

### **1.2.1 Keywords**

Population genetics; Microsatellites markers; *Saccharina latissima*; DartSeq; Genomic markers; St-Lawrence



### 1.3 INTRODUCTION

Brown macro-alga gatherings create marine forests named kelp forests (Dayton, 1985; Gaines and Roughgarden, 1987; Smale et al., 2013). These forests participate in wave attenuation and carbon sequestration (Falkenberg et al., 2012) and provide nurseries, shelters, and feeding sites for many marine species (Bolton, 2010; Dayton, 1985; Gaines and Roughgarden, 1987; Smale et al., 2013; Trebilco et al., 2015). Kelp forests also have economic importance because they serve as refugia for commercial species such as the Pacific Cod (*Gadus macrocephalus*) (Efird and Konar, 2014) and are harvested and grown on the production line to use in many industries (e.g., pharmaceutical and biomedical products, cosmetics, feed supplements, or biofuels) (Bartsch et al., 2008; Forbord et al., 2012; Jahan et al., 2017; Marinho et al., 2015).

The sugar kelp (*Saccharina latissima*) is a brown macro-alga from the *Laminariaceae* family (Bolton et al., 1983; Lane and Saunders, 2005). This alga is found on coastal rock beds protected from strong waves (Bekkby and Moy, 2011; Bernier et al., 2018) at depths varying from 2.5 m to 20-25 m (Bartsch and al., 2008; Borum et al., 2002; Hanelt, 1998). *S. latissima* is distributed in the northern hemisphere and grows in temperate and polar zones in the Pacific and Atlantic Oceans (Neiva et al., 2018). After the last glaciation, *S. latissima* is thought to have recolonized both coasts of the Atlantic North from the Pacific through Arctic currents (Neiva et al., 2018). *S. latissima* reproduces sexually, and marine currents are responsible for meiospores dispersion. Macro-algae have a reduced dispersal capacity, between a few meters to a few kilometers (Billot et al., 2003; Reed et al., 1992). For sugar kelp, the dispersion is associated with meiospore and gametophyte transport. This process depends on several factors such as gamete dispersion capacity and marine currents (Alberto et al., 2010; Billot et al., 2003; Coleman et al., 2011) and significantly affects genetic structure (Durrant et al., 2018; Valero et al., 2011).

Kelp populations, like *S. latissima*, are declining all around the globe (Krumhansl et al., 2016; Nepper-Davidsen et al., 2019; Smale, 2020), in the St-Lawrence Gulf and estuary

the monitoring of the laminar is not sufficient to know their condition. In the St-Lawrence, two main factors may endanger laminar, the warming of the water (Bernier et al., 2018), which no longer allows optimal growth (Smale, 2020), and an increased abundance of native and exotic invasive grazers (sea urchins) (Bernier et al., 2018; Tamigneaux and Johnson, 2016). However, despite this specie's importance and the worrying decrease in the St-Lawrence, baseline levels of genetic diversity have never been recorded.

Several constraints (such as geographic and physical-chemical properties) can influence genetic exchanges between individuals and populations within a species. Individuals reproduce preferentially to form groups called populations (Waples et Gaggiotti, 2006). When barriers limit gene flow, populations can evolve separately and genetically differentiate into spatially distinct entities (Hey and Machado, 2003). In marine environments, it has long been thought that there were very few barriers to gene flow and that there was very little genetic structure (Cowen et al., 2007). However, marine ecosystems have a lot of barriers to dispersal such as marine currents, low habitat connectivity, or large distances which create structure and differentiation among marine populations (Cowen et al., 2007, Hellberg, 2009). Several studies have characterized the genetic structure of sugar kelps (Breton et al., 2018; Guzinski et al., 2016; Møller Nielsen et al., 2016; Neiva et al., 2018). At a global scale, four genetically different groups have been identified for *S. latissima* using microsatellite markers and cytochrome oxidase I (COI) sequencing. These groups correspond to the Arctic, an East-Atlantic, a West-Atlantic, and a Pacific clade (Neiva et al., 2018). This species can be highly structured at a finer scale; several studies have shown that spatially close populations (50 km) can be genetically differentiated (Breton et al., 2018; Møller Nielsen et al., 2016). In Europe, the Atlantic East Coast is well structured. Between Scotland and Portugal, ten different populations were detected with SNPs (Guzinski et al., 2020). With these markers, all sites were differentiated, even those in the same region in Brittany (France). With microsatellite markers, the resolution was lower than with SNPs. The differentiation of populations was higher in both the north and south zones compared to the middle part of their studied area (around the French coast) (Guzinski et al., 2020). In North America, a study conducted in the USA showed the presence of two genetic populations separated by Cape

Cod (Mao et al., 2020). Another study at a finer scale showed significant differentiation between closer sites and recommended the use of local sporophytes in the algaculture in this region (Breton et al., 2018).

Kelp farming has long been carried out in coastal Asia, and the practice is now expanding in Europe, South America, and North America (Augyte et al., 2017; Campbell et al., 2019; Goecke et al., 2020; Kim et al., 2019). *S. latissima* is one of the main cultivated algal species in many countries (Augyte et al., 2017; Breton et al., 2018; Tamigneaux and Johnson, 2016). Algae such as sugar kelps were traditionally collected in the Native American culture in Canada (Kuhnlein and Turner, 2020). Then it was used as a fertilizer in agriculture and horticulture and introduced in the agrifood of livestock. This increased use of algae raised the question of how to cultivate these species efficiently and safely. *S. latissima* is cultivated along the St-Lawrence estuary and Gulf since 1992 (Tamigneaux and Johnson, 2016). This cultivation often involves collecting gametophytes from wild populations and setting seedlings on lines until sufficient growth. In the St-Lawrence estuary and Gulf, producers have used gametophytes from one location since 2014 and set seedlings on lines at different offshore sites, sometimes hundreds of kilometers away (Gendron et al., 2007; Tamigneaux et al., 2013; Bénard-Déraspe et al., 2019). Even though the sporophytes are usually harvested before developing fertile meiospores, there is a risk of genetic contamination (Tamigneaux et al., 2013). The marine farms are situated in Sept-Îles, Magdalen Island, and Paspébiac. The population most at risk is the one at Sept-Îles since the culture tests located on the Magdalen Islands were stopped after three years and the yield was very low and the Paspébiac population is close to the Bonaventure site. In our case, genetic pollution or contamination refers to an accidental introduction of new alleles in wild populations. This contamination can occur if sporophytes are detached from the culture lines and disperse in nearby wild populations. The risk of genetic contamination depends on the extent of genetic differentiation between the population of the cultivation lines and the wild populations near the algaculture sites. A study conducted in China and Japan on *Saccharina japonica* showed that the culture did not affect the genetics of the wild populations using 19 selected simple sequence repeat (SSR) markers (Zhang et al., 2017). In this study, they

compared wild populations and cultivated populations. The genetic diversity was higher for wild populations and there were two groups with significant differentiation: wild populations and cultivated populations. These results showed that the algaculture did not have a major disturbance on *Saccharina japonica* wild populations in this area. Addressing the genetic diversity and structure of the estuary and the Gulf of St-Lawrence is an important step toward the efficient management of this species.

This study aims to obtain baseline levels of genetic diversity and assess the genetic structure of wild populations of *Saccharina latissima* from St-Lawrence's Gulf and estuary using microsatellite and genomic markers. The specific objective for this species is to determine the potential contamination effects of the algaculture on wild populations with a better understanding of the genetic structure. Our fundamental objective was to describe the genetics of *S. latissima* in the St-Lawrence estuary and Gulf to become a point of comparison for future studies and thus see the trend in the genetics of our laminar populations. Our hypotheses are: (1) The genetic structure of *S. latissima* populations follows the pattern of the St-Lawrence currents since they are mainly responsible for the dispersal of this species; (2) As individuals of *S. latissima* may disengage from the lines during their cultivation, there may be genetic contamination by individuals grown from Bonaventure spawners in the Sept-Îles population. We predict that (1) sites located on the North Shore will be differentiated from other sites because of the presence of the Anticosti gyre; the Gaspé current genetically links part of the estuary, the North Gaspesian Coast, and the Magdalen Islands; the southern Gaspesian shore is more isolated, and will form a distinct population. Moreover (2) if the site of Bonaventure is differentiated from the algaculture site, then genetic contamination would entail individuals from areas near the culture sites being more closely related to the source than to local populations. Information on this crucial species can help create appropriate recommendations for managing and conserving biodiversity in the St-Lawrence.

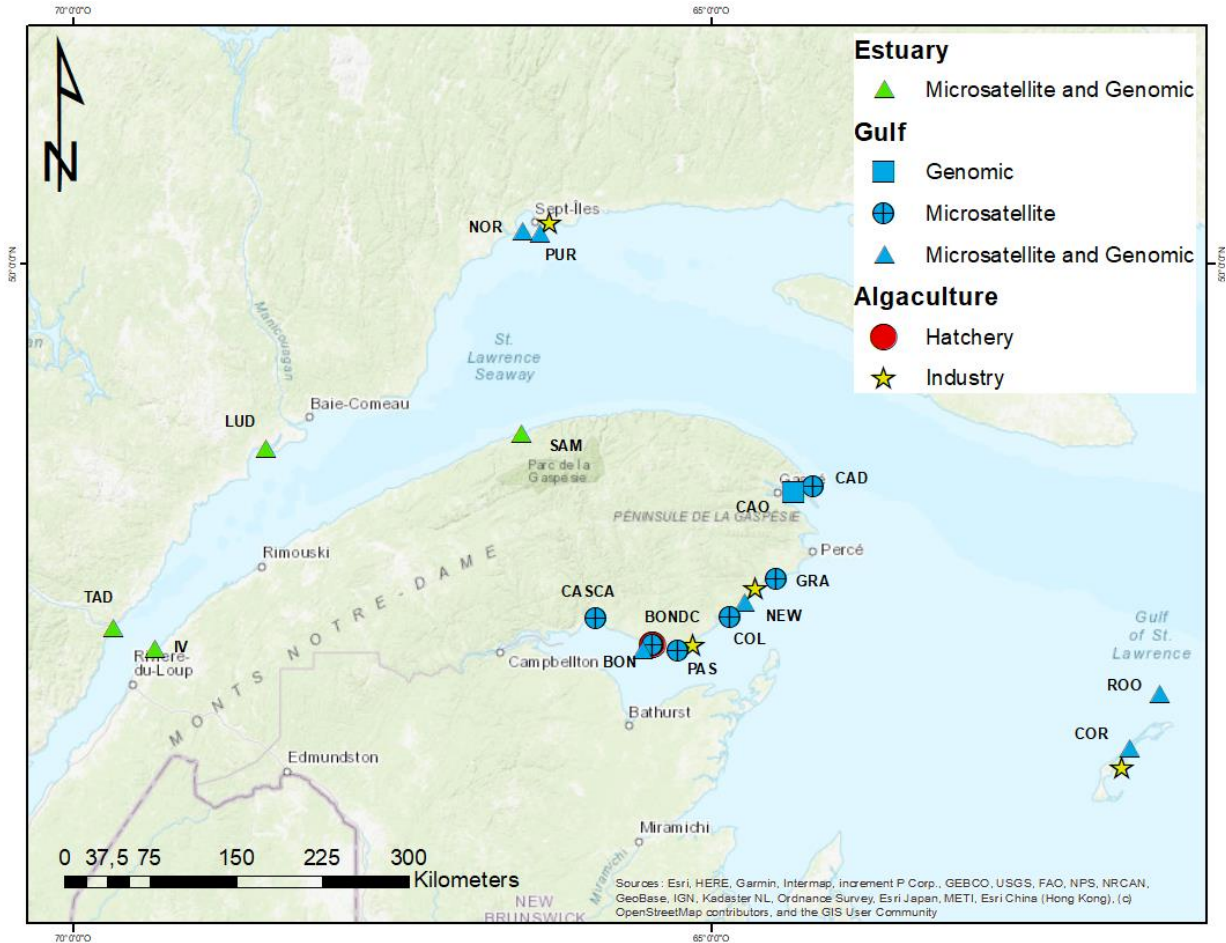
## 1.4 MATERIAL AND METHODS

### 1.4.1 Sampling

Wild mature sporophytes of *Saccharina latissima* (n = 480) were sampled throughout the St-Lawrence estuary and Gulf in 2018 and 2019. Thirty individuals were collected at 17 sites in the estuary (TAD, IV, and LUD) and in the Gulf: along the North Shore (PUR, NOR), along the Gaspesian Coast (SAM, CAD, CAO, GRA, NEW, COL, PAS, BONDC, BON, and CASCA) and around the Magdalen Islands (ROO and COR) (**Figure 4; Table 1**). Bonaventure (BON) location corresponds to the population from which spawners used in the hatchery originate. Some of the sites were located near algaculture sites, others were located further away to be able to compare them and detect genetic contamination in wild populations near algaculture sites (**Figure 4**). In Sept-Îles, the site PUR is less than 1 km away from the algaculture site while the site NOR is about ten kilometers away. In the Magdalen Islands, the site COR is about ten kilometers away from the culture site while ROO is fifty kilometers away. Blade fragments (~3 cm<sup>2</sup>) were placed individually in silica beads until DNA extraction.

**Table 1.** Sampling sites and their GPS coordinates of *Saccharina latissima* individuals in the St-Lawrence Gulf and estuary.

<b>Site</b>	<b>Latitude (°N)</b>	<b>Longitude (°E)</b>
Tadoussac (TAD)	48.133119	-69.705842
Île verte (IV)	48.034772	-69.340821
Pointe de Ludger (LUD)	49.161609	-68.173798
Ste-Anne-des-Monts (SAM)	49.130887	-66.500031
Pointe Noire (NOR)	50.163282	-66.467896
Purmer (PUR)	50.151276	-66.325630
Cap-des-Rosiers (CAD)	48.859972	-64.190300
Grande Rivière (GRA)	48.392669	-64.501934
Newport (NEW)	48.263541	-64.735703
Colborne (COL)	48.181379	-64.895210
Paspébiac (PAS)	48.017946	-65.265587
Bonaventure (BONDC)	48.031149	-65.479357
Bonaventure (BON)	48.041124	-65.491133
Cascapedia (CASCA)	48.175107	-65.918175
Cormorandière (COR)	47.496607	-61.723938
Rocher-aux-oiseaux (ROO)	47.806514	-61.232300



**Figure 4.** Map of the 17 sampling sites for *Saccharina latissima* in the St-Lawrence Gulf and estuary, Quebec, Canada. The shape of symbols refers to the type of genetic marker used for each sample site (microsatellite and genomic markers). The red circle represents the algalculture nursery, and the yellow stars represent algalculture sites.

#### 1.4.2 Microsatellite markers

##### 1.4.2.1 Extractions

Total genomic DNA was extracted from 5 to 10 mg of dry tissue using the Nucleospin 96 plant kit (Macherey-Nagel, Germany). The extractions were performed according to the manufacturer's instructions, except that samples were left in the lysis buffer at room

temperature for one hour rather than being heated to 65 °C for 30 min. The extracted DNA was eluted in 200 µL of the supplied elution buffer.

#### 1.4.2.2 Amplification

Overall, 44 specific loci for *S. latissima* were amplified. Twelve of these loci were previously described in Paulino et al. (2016) (Annex 1.). Gusinski et al. (2016) characterized 32 loci from expressed sequence tag-derived (EST) (Annex 1.). DNA was diluted at 1:50 to help reduce PCR inhibitors. PCR was conducted in 20 µL volumes using 2 µL of DNA dilution. The kit Promega GoTaq® Flexi (Promega Corporation, Madison, WI, USA) was used for the PCR. For each multiplex, a mix of all the PCR products was made. For the multiplexes with the 12 loci characterized by Paulino et al. (2016), PCR mixes were prepared following their instructions except for dNTPs (which were adjusted to 150 µM) and the Taq polymerase (adjusted to 0.5 U). For the multiplexes from the EST, the mix contains 2 mM of MgCl<sub>2</sub>, 1 X of the buffer GoTaq® Flexi PCR buffer, 150 µM of dNTP, 400 nM of forward, and reverse primers, and 0.5 U of Taq polymerase. All PCR cycling conditions were achieved using a T100™ Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Inc., Hercules, CA, USA). All parameters used for this step are described in Paulino et al. (2016) and Gusinski et al. (2016) (for the EST multiplexes) (Annex 2.). 2 µL of the PCR product pool was added to 10 µL of loading buffer for each multiplex. This buffer consisted of 0.5 µL of the SM594 size standard (Mauger et al., 2012) and 9.5 µL of Hi-Di formamide. The multiplexes were denatured at 95°C for 3 min and run in an ABI 3130 XL capillary sequencer (Applied Biosystems, USA). The alleles were scored manually in Genemapper, Version 4.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and verified by two readers.



### 1.4.2.3 Data analyses

The presence of sequencing errors like stuttering bands, allelic dropouts, and null alleles was verified with the MICRO-CHECKER software version 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004). Monomorphic loci, loci with more than 30% of missing data, and loci with missing data for all individuals for a site were removed from the database. All individuals with more than three missing data per loci were also removed from the database. After selection, 22 loci were retained for 308 individuals. All locations were kept for analyses except CAO because it contained too much missing data. The number of individuals per site ranged from 9 to 28.

Allelic richness was estimated in FSTAT, version 2.9.4 (Goudet, 2005). Observed heterozygosity ( $H_o$ ), which measures the frequency of heterozygotic genotypes, was calculated using GENEPOP, version 4.2 (Rousset, 2008). This index was compared to the expected heterozygosity ( $H_e$ ) to determine whether samples or loci are in Hardy-Weinberg equilibrium. The inbreeding coefficient ( $F_{IS}$ ) was calculated using FSTAT, version 2.9.4 (Goudet, 2005), and their significance was tested with GENODIVE, version 2.0 (Meirmans and Van Tienderen, 2004). Deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were assessed in GENEPOP, version 4.2 (Rousset, 2008), using a Markov chain Monte Carlo method (MCMC).

Genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) indices were calculated using FSTAT, version 2.9.4 (Goudet, 2005). A discriminant analysis of principal components (DAPC) was achieved using the "Adegenet" library (Jombart and Collins, 2015) in Rstudio, version 4.2 (RStudio, 2015). Forty PCs and two linear discriminant functions were retained for the DAPC. To understand the genetic structure better, a Bayesian approach was used in STRUCTURE software, version 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) (10000:100000 MCMC and 50 iterations). The output file was uploaded to STRUCTURE HARVESTER, version 0.9.94 (Earl, 2012), and CLUMPAK, version 1.1 (Kopelman et al., 2015). Finally, an estimated position of the gene flow barriers was shown using the software BARRIER, version 2.2 (Manni et al., 2004). This

software uses the GPS coordinates of all sites and the corresponding  $F_{ST}$  to determine where the gene flow is slowed down.

To evaluate the different genetic structures revealed by the  $F_{ST}$ , the DAPC, STRUCTURE, and BARRIER, analyses of molecular variance (AMOVA) were performed with ARLEQUIN, version 3.5.2 (Excoffier and Lischer, 2010). In addition, 5 permutations were tested using different group structures to demonstrate which group composition better explains the variation.

### 1.4.3 Genomic markers

We used DarTseq markers, these markers are genotyped and sequenced with next generation sequencing technique which can generate thousands of SNP markers. This technique reduces genome complexity by using restriction enzymes and sequencing restriction fragments. We sent 282 adult sporophytes of *Saccharina latissima* from 12 locations to Diversity Arrays Technology (DArT) at the University of Canberra (Australia). Four sites were located in the St-Lawrence estuary (TAD, IV, LUD, SAM) and eight in the St-Lawrence Gulf, along the North Shore (PUR, NOR), along the Gaspesian Coast (CAO, NEW, BON, PAS), and around the Magdalen Islands (ROO, COR).

For each individual, about 5 to 10 mg of dry tissue and a tungsten bead were placed in the extraction plate and ground into a small powder. Plates were then sent to DArT to perform sequencing genotyping.

DArT loci were filtered using the "dartR" library (Gruber et al., 2018) in Rstudio (version 4.2) (RStudio, 2015) to obtain only the informative loci. Five filters were used. We removed (1) all the monomorphic loci, (2) the loci with more than 0.5% of missing data, (3) the duplicate loci, (4) the individuals with more than 10% of missing data, and the loci which were not at the Hardy-Weinberg equilibrium. A total of 7281 loci and 227 individuals in 11 sites remained and were used for the analyses.

For the genomic data, expected heterozygosity and observed heterozygosity by population were performed using the “dartR” library (Gruber et al., 2018). FIS were calculated with these indices with the following formula, and the significance was calculated by bootstrap with 1000 iterations:  $F_{IS} = (H_E - H_O) / H_E$

A Principal Coordinates Analysis (PCoA) was performed to allow a visual interpretation of the genetic structure of the data. As a complementary analysis, a model-based clustering method was executed with STRUCTURE software, version 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) (10000:100000 MCMC and 50 iterations). The output file was uploaded to STRUCTURE HARVESTER, version 0.9.94 (Earl, 2012), and CLUMPAK, version 1.1 (Kopelman et al., 2015).

## 1.5 RESULTS

### 1.5.1 Microsatellite markers

Genetic diversity indices were relatively low, with  $H_O$  values ranging from 0.18 to 0.36 and a mean number of alleles of 2.8 on average per site (**Table 2**). Moreover, more than half of the sites had positive and significant  $F_{IS}$  values. Only five sites were in Hardy-Weinberg equilibrium due to heterozygosity deficiency.

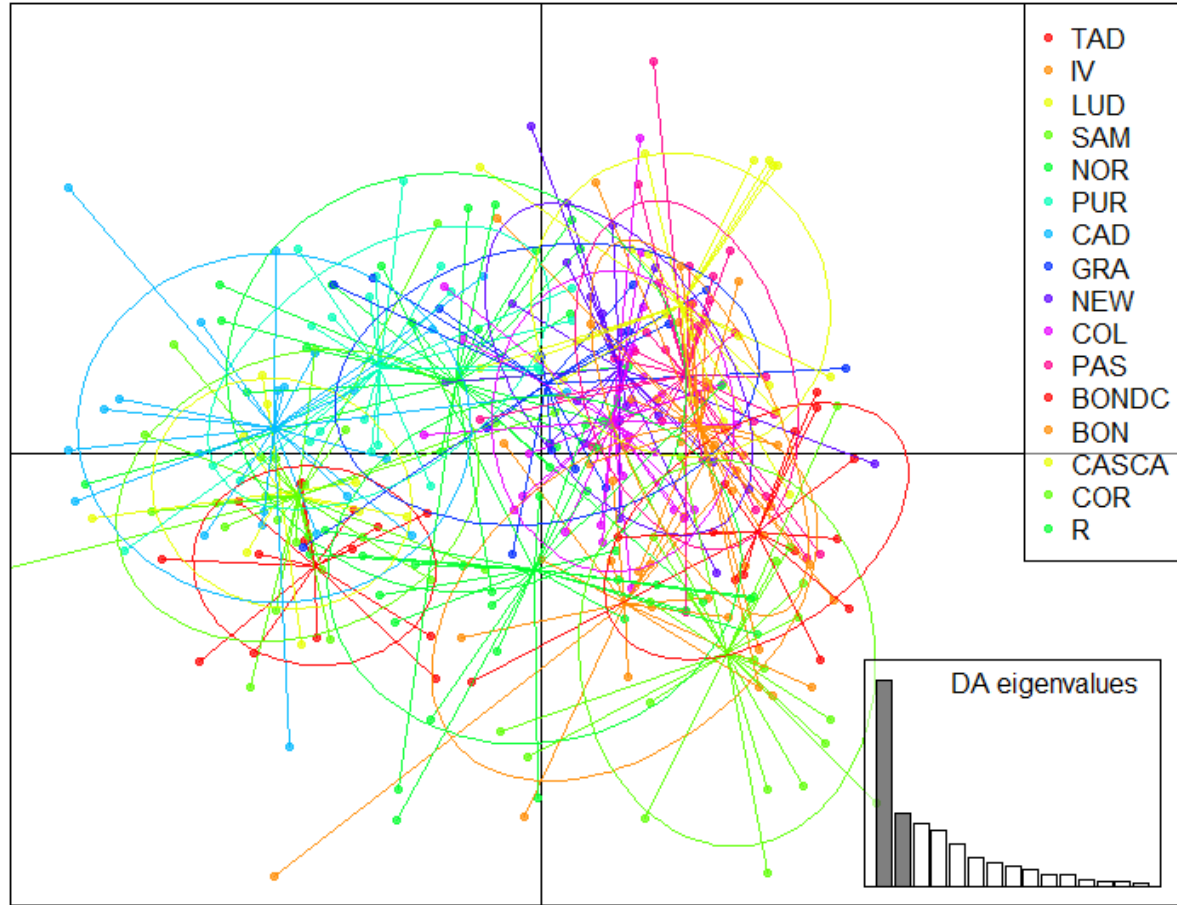
**Table 2.** Statistics indices calculated on 22 microsatellite markers and the 308 individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence River and Gulf. Sample size (n), expected heterozygosity ( $H_E$ ), observed Heterozygosity ( $H_O$ ), the mean number of alleles (Alleles), the mean allelic richness (Allelic Richness), the inbreeding coefficient values ( $F_{IS}$ ), Hardy-Weinberg equilibrium and Heterozygote deficiency.

Site	n	$H_E$	$H_O$	Alleles	Allelic Richness	$F_{IS}$	HW equilibrium	Heterozygote deficiency
TAD	14	0,3300	0,3636	2,76	1,677	-0,106	NS	0,8934
IV	15	0,2486	0,1917	2,48	1,505	<b>0,236</b>	***	<b>0,0001</b>
LUD	9	0,3358	0,2884	2,38	1,660	0,188	NS	0,2801
SAM	22	0,3209	0,2800	3,10	1,660	<b>0,131</b>	***	<b>0,0000</b>
NOR	22	0,3387	0,2995	2,86	1,706	<b>0,118</b>	***	<b>0,0021</b>
PUR	20	0,3063	0,2800	2,62	1,643	<b>0,088</b>	NS	0,0856
CAD	19	0,3320	0,3070	3,00	1,693	<b>0,077</b>	***	<b>0,0019</b>
GRA	15	0,3167	0,3028	2,90	1,662	0,045	**	<b>0,0023</b>
NEW	21	0,3076	0,2608	2,95	1,658	<b>0,156</b>	***	<b>0,0001</b>
COL	23	0,2805	0,2705	2,86	1,584	0,038	NS	0,5031
PAS	23	0,2744	0,2340	3,05	1,569	<b>0,15</b>	***	<b>0,0002</b>
BOND C	13	0,2815	0,1778	2,48	1,597	<b>0,381</b>	***	<b>0,0000</b>
BON	23	0,2703	0,2581	2,86	1,578	0,047	*	<b>0,0350</b>
CASC A	22	0,2596	0,2331	2,76	1,530	<b>0,105</b>	*	<b>0,0362</b>
COR	21	0,2728	0,2315	2,76	1,563	<b>0,155</b>	***	<b>0,0000</b>
ROO	26	0,2770	0,2933	3,00	1,58	-0,06	NS	0,7767

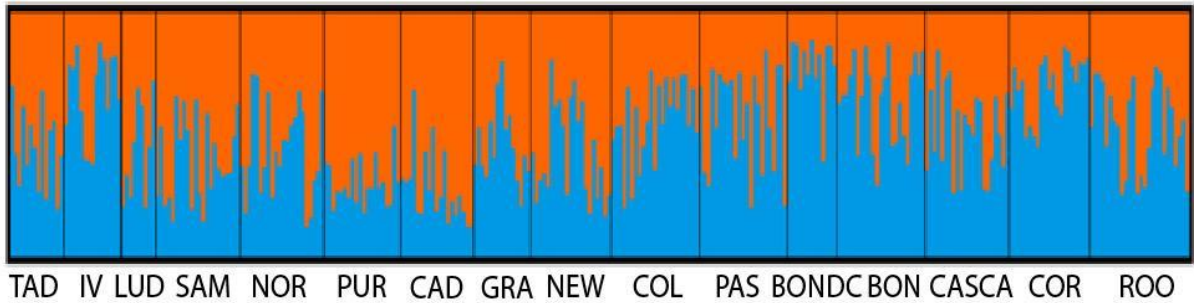
\*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $0.001 < p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$  and NS = nonsignificant

The matrix of pairwise  $F_{ST}$  (Annex 3) revealed low genetic differentiation among the 16 *Saccharina* locations. Significant  $F_{ST}$  values were found between the Magdalen Islands location (ROO) and the majority of other sites and between the Sept-Îles site and many locations. The population of Bonaventure (BON) used for algal culture showed small but significant genetic differentiation with the algae located at NOR of the North Shore and with the ones collected in the Magdalen Island (COR and ROO), where the Bonaventure plants are grown on lines (Annex 3).

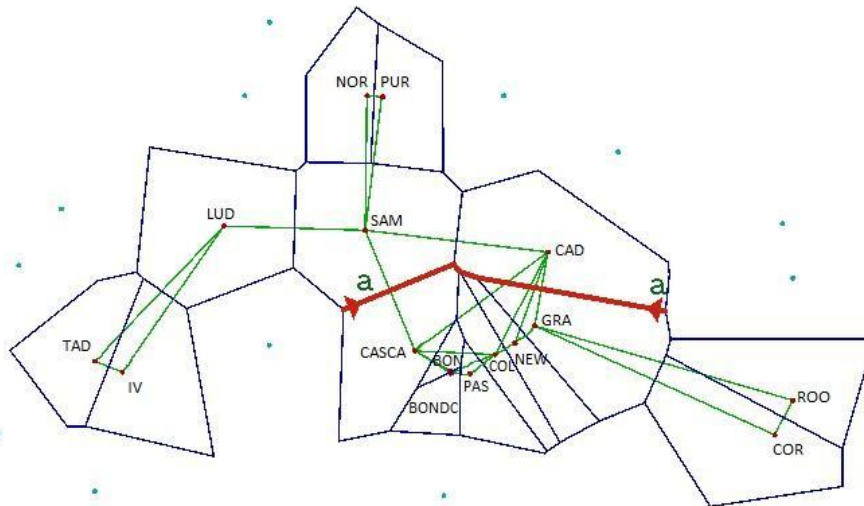
The discriminant analysis of principal components (DAPC) detected the presence of a single group composed of all 16 sites (**Figure 5**). STRUCTURE analysis determined that a two-group structure was the most likely scenario. The deltaK indicated that the probability of two groups ( $k=2$ ) was more critical than any number of groups. However, visual observation of the results did not reveal the identification of two clear groups (**Figure 6**). The BARRIER analysis showed the presence of one barrier in the study area (**Figure 7**). This barrier divides the study area into two groups (1) the estuary, the North Shore and the north of the Gaspesian Peninsula (TAD, IV, LUD, SAM, NOR, PUR, and CAD); (2) the south of the Gaspesian Peninsula and the Magdalen Islands (GRA, NEW, COL, PAS, BON, BONDC, CASCA, COR, and ROO). Various AMOVAs were performed (Annex 4); the most significant one was composed of 3 groups: (1) the estuary, the North Shore, and the north of the Gaspesian Peninsula (TAD, IV, LUD, PUR, NOR, SAM, CAD, GRA, and NEW); (2) south of the Gaspesian Peninsula (COL, PAS, BON, BONDC, and CASCA); (3) the Magdalen Islands (ROO, and COR) (**Table 3**). This structure explained 1.72% of the variation (this percentage is significant with a p-value of 0.01955). AMOVAs did not confirm the structure suggested by BARRIER or STRUCTURE. The variations explained by the groups detected by BARRIER and STRUCTURE were not significant (Annex 4). The structure detected by the microsatellite markers shows an absence of genetic contamination since all sites would belong to the same genetic population.



**Figure 5.** Discriminant analysis of principal components (DAPC) performed on the 22 microsatellite markers and the 308 individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence.



**Figure 6.** Genetic clustering identified by a Bayesian approach in STRUCTURE analysis performed for the 22 microsatellite markers and the 308 individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence River and Gulf. Every bar between two black lines represents an individual in one site.



**Figure 7.** Genetic boundary (red line a) positioned by the software BARRIER (version 2.2) based on genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) and Delaunay triangulation of GPS coordinates (thin line). Analysis was performed on the 22 microsatellite markers and the 308 individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence estuary and Gulf.

**Table 3.** Analysis of molecular variance (AMOVA) using three groups. The first includes TAD, IV, LUD, PUR, NOR, SAM, CAD, GRA, and NEW; the second one is composed of COL, PAS, BON, BONDC, and CASCA, and the third group includes the Magdalen Islands sites (ROO and COR).

Source of variation	d.f.	Sum of Squares	Variance components	Percentage of variation	p-value
<b>Among groups</b>	2	31.368	0.04580	1.72	0.01955
<b>Among populations within groups</b>	13	85.409	0.10373	3.89	0.00000
<b>Among individuals within populations</b>	292	780.320	0.15353	5.75	0.00000
<b>Within individuals</b>	308	728.500	2.36526	88.64	0.00000
<b>Total</b>	615	1625.597	2.66832	100	

### 1.5.2 Genomic markers

We obtained 68 971 DarTSeq loci specific for *S. latissima* from the genomic center. After filtering, the final dataset included 227 individuals from 11 locations genotyped at 7281 loci. TAD was eliminated because of the low number of individuals after filtering. Genetic diversity with SNP indices was low, with observed heterozygosity ( $H_O$ ) values ranging from 0.054 (LUD) to 0.077 (PUR) (**Table 4**). The expected heterozygosity ranged from 0.057 (IV) to 0.075 (PUR). All FIS were low but significant; some had positive and other low values.

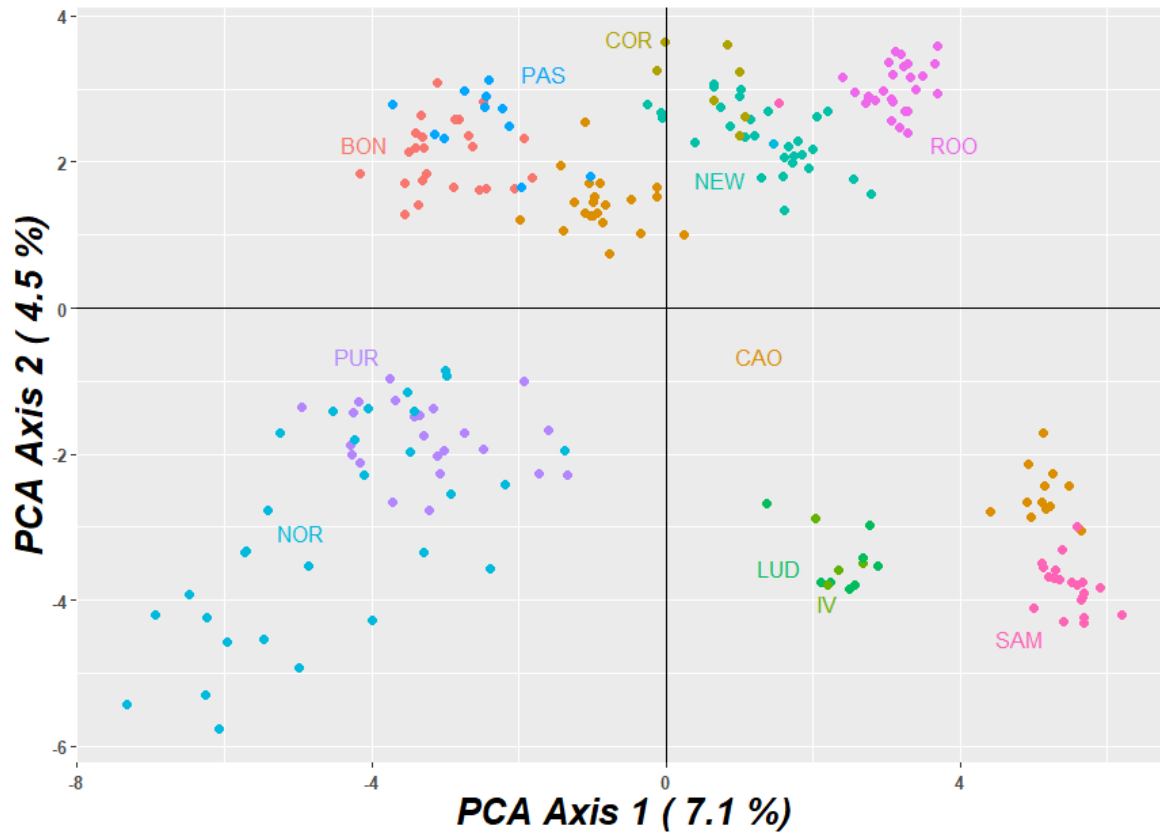


**Table 4.** Statistics indices calculated on genomic markers and the 229 individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence River and Gulf. Sample size (n ind), number of loci used by pop (n loc), observed heterozygosity ( $H_O$ ), and expected heterozygosity ( $H_E$ ).

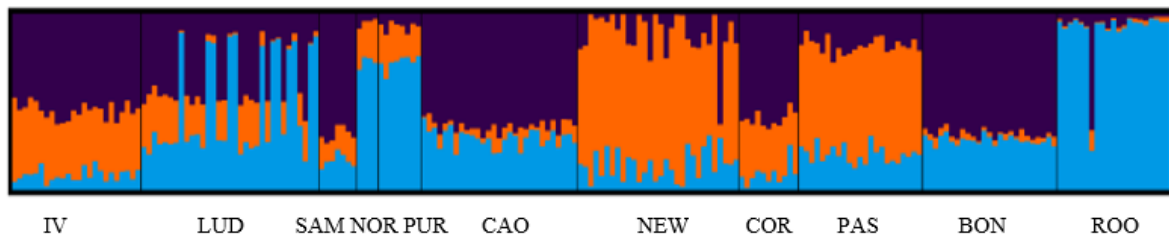
Site	n ind	n loc	$H_O$	$H_E$	$F_{IS}$
IV	10	6220	0.058187	0.057090	<b>-0,019</b>
LUD	9	6365	0.053822	0.058100	<b>0,074</b>
SAM	21	6426	0.065112	0.066571	<b>0,022</b>
NOR	30	6438	0.072078	0.074263	<b>0,030</b>
PUR	23	6448	0.077291	0.074664	<b>-0,035</b>
CAO	33	6371	0.070281	0.073609	<b>0,045</b>
NEW	29	6449	0.070615	0.069339	<b>-0,018</b>
PAS	11	6497	0.075615	0.070747	<b>-0,069</b>
BON	24	6415	0.072884	0.071938	<b>-0,013</b>
COR	12	6228	0.068015	0.070425	<b>0,034</b>
ROO	25	5671	0.070129	0.072339	<b>0,031</b>

The PCoA analyses revealed three clear groups (**Figure 8**); one including estuarine locations and one Gulf site at the edge of the estuary (IV, LUD, and SAM), and the second one including the North Shore (NOR, and PUR). The third one comprises the other Gulf sites: the Magdalen Islands (COR and ROO) and the Chaleur Coast (BON, PAS, and NEW). Part of the individuals collected in CAO belonged to the estuary group, whereas the others belonged to the Gaspesian coast group. STRUCTURE analyses revealed a scenario with three groups as the most likely one (deltaK). These groups were less clear than with the PCoA. One region corresponds to the estuary and four Gaspesian sites (IV, LUD, SAM, CAO, COR, and BON). The second one consists of the North Shore and Magdalen Islands (NOR, PUR, and ROO), and the third one is composed of two sites from the Gaspesian Coast (ROO and COR) (**Figure 9**). The structure revealed by genomic markers did not show any

evidence of genetic contamination since PUR, the site close to the lines, was not grouped with Bonaventure, the hatchery lineage.



**Figure 8.** Principal Coordinate Analysis (PCoA) results based on 7 281 genomic markers from individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence estuary and Gulf. Each point represents an individual, and each color corresponds to one site.



**Figure 9.** Genetic clustering identified by a Bayesian approach in STRUCTURE analysis performed on 7 281 genomic markers from individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence estuary and Gulf. Every bar between two black lines represents an individual in one site.

## 1.6 DISCUSSION

This is the first study examining patterns of genetic diversity and structure in wild populations of *Saccharina latissima* (sugar kelp) from the St-Lawrence estuary and Gulf. Our hypotheses were: (1) The genetic structure of laminar populations follows the pattern of the St-Lawrence currents since they are mainly responsible for the dispersal of this species, and (2) As individuals of *S. latissima* may disengage from the lines during their cultivation, there may be genetic contamination from individuals grown from Bonaventure spawners in the Sept-Îles population.

In our results, we report low genetic diversity in *S. latissima* from the St-Lawrence, with half of the populations showing high  $F_{IS}$  indices and a low number of effective alleles per locus at microsatellites loci. Two main hypotheses can explain such weak genetic diversity. First, levels of genetic diversity may be naturally low due to bottlenecks following postglacial colonization. Secondly, it could be related to a possible decrease in Laminaria in the St-Lawrence. As mentioned earlier, no genetic information on the past of our species is available in order to compare it with our results, which limits the possible biological interpretation of these results. In interpreting their genetic diversity, it is difficult to distinguish which values may be considered normal for this species in the study area and which may be related to a decline of populations in the St-Lawrence. In other areas of the

Northwest Atlantic coast, populations of this species show higher levels of genetic diversity. A similar study in Maine, USA, found higher levels of genetic diversity with only six microsatellite markers (Allelic Richness between 3.6 and 4.2), and inbreeding was not detected (Breton et al., 2018). Neiva et al. (2018) found that the Northeastern Atlantic populations were more diversified than the ones from the Western Atlantic or the Pacific using microsatellite markers. Three of our sites sampled in their study (Sept-Îles, Newport, and Bonaventure) had an average allelic richness of 3.9, similar to other populations from the Northwest Atlantic but higher than our current values (around 3). In contrast to our results, Neiva et al. (2018) did not detect inbreeding at these three locations but at several other northeastern sites (Neiva et al., 2018). The Canadian Maritimes exhibited high inbreeding values and low heterozygosity levels. Gusinski et al. (2018) analyzed 11 populations of *S. latissima* from the Northeastern Atlantic with both microsatellite and SNP. Heterozygosity levels were similar to our St-Lawrence populations but the allelic richness was twice as high. Higher levels of genetic diversity in the North-east than in the North-west populations were also found in *Laminaria digitata* (Neiva et al., 2020).

Genetic structure was weak in our system. A single panmictic population was discovered using microsatellite markers whereas three populations were detected with genomic markers. The first one included estuarine sites and the North Shore of the Gaspesian Peninsula; the second one included the North Shore, and the third one comprised the Gulf sites: the Magdalen Islands sites and the Chaleurs Bay. As expected, the genetic structure seems to follow major currents in the St-Lawrence. Sept-Îles site was isolated from the other locations, likely due to the Anticosti gyre present near the North Shore. The Gaspesian sites were grouped and isolated from the other sites. The only odd one was the grouping of the Magdalen Islands with the Chaleur Bay group. The Magdalen Islands were expected to group with the Gaspesian north coast or the estuary. This could be because the Gaspé current that goes to the Magdalen Islands is not strong enough to disperse the spores as far as it dissipates after the Gaspesian point or even if they are finally transported by the current, the duration is too long for it to be able to be established in a viable way. This structure could be explained by isolation-by-distance, marine currents, postglacial recolonization, or environmental

conditions (e.g., salinity gradient, marine currents, temperature, or ice drift). This structure is unlikely due to genetic contamination since the site where the Bonaventure strain was grown for 3 years is located at a great distance (70 km) from our sampling site and since the kelps had very low growth rates there.

In Maine, *S. latissima* shows differentiation within a few kilometers. For example, four groups were detected with microsatellites along only 210 km of shoreline (Breton et al., 2018). However, a study with SNPs on the Northwest Atlantic Coast shows a low structure (Mao et al., 2020). Indeed, only two populations along almost 700 kilometers were detected, separated by Cape Cod, a Peninsula that seems to be a barrier to gene flow (Mao et al., 2020). In comparison, the Gaspesian Peninsula could be a barrier to gene flow that separates the estuary, the North Shore, and the north Gaspesian coast from Chaleurs Bay. Northeastern Atlantic populations show high levels of genetic structure. Between Scotland and Portugal, ten different populations were detected and sites less than 80 km apart were differentiated using SNPs (Guzinski et al., 2020). With microsatellite markers, the resolution was lower, and sites in the middle of the study area, around the French coast, were not as differentiated as with SNPs (Guzinski et al., 2020). In the St-Lawrence, microsatellite markers did not provide good resolution.

A possible decline of sugar kelp and/or glacial recolonization may be responsible for the low genetic diversity and structure in the St-Lawrence. Currently, in Nova Scotia, 85 to 99% of the kelp forest (*S. latissima* and *L. digitata*) have been lost since 1960 (Filbee-Dexter et al., 2016). Decreases in abundance have also been reported in the Gulf of Maine and Rhode Island (Feehan et al., 2019; Witman and Lamb, 2018). The distribution, growth, genetic diversity, and structure of kelps, like *S. latissima*, are influenced by several environmental and ecological factors (e.g., light, temperature, nutrients, dissolved oxygen, competitors, and grazers). The perturbation of one of these factors can affect the entire ecosystem. Water temperature has a strong influence on the distribution and ecophysiology of kelp (Breeman, 1990; Smale, 2020). In the St-Lawrence estuary, the water temperature increased from 3-3.5°C before 1940 to 5.5 °C between 2015 and 2020 (Bernier et al., 2018). With global

warming, the rise of water temperature has endangered kelp forests worldwide (Smale, 2020). Krumhansl et al, (2016) examined kelp populations over the world and showed that 38% of the ecoregion studied have declined (Krumhansl et al., 2016).

Recurrent bottlenecks following Pleistocene glaciation may also have affected the genetic diversity of sugar kelps in the St-Lawrence. During this period, 25 000-18 000 years ago, the ice sheet covered North America, from the Arctic to approximately New York, and the St-Lawrence was wholly sealed in ice (Maggs et al., 2008). After this period, many species, such as *S. latissima*, recolonized ice-free areas. It has been assumed that populations of the Northwest Atlantic were composed of individuals that migrated across the Atlantic Ocean from Europe following the last glaciations (Lee, 1973; Taylor, 1957, Luttikhuisen et al. 2018). Neiva et al. (2018) suggested that Northwest and Northeast lineages evolved in the Atlantic and split into two groups prior to the late glacial maximum. The consequences of glaciations were harsher in the Northwest Atlantic due to the paucity of rocky shores resulting in lower genetic diversity in members of this phylogroup. Few studies have examined recolonization patterns in species from the St-Lawrence. The anadromous rainbow smelt (*Osmerus mordax*) recolonized the St-Lawrence estuary from two refugia (Bernatchez, 1997). The Mysid *Neomysis americana* includes two different lineages one that would have colonized the St-Lawrence via a southern refuge around Georges Bank with a migration route via the Champlain Sea and another one with an origin east of Newfoundland (Grand Banks) (Cortial et al., 2019) Our results show a weak genetic diversity and structure, suggesting recolonization from a small number of individuals and a single refugium. Using mitochondrial markers such as COI could help confirm our results based only on nuclear markers.

Low genetic diversity might indicate an uncertain future for *S. latissima* in the St-Lawrence. Global changes are pressing this species, and a low genetic diversity could hinder the sugar kelp's resilience and persistence (Ehlers et al., 2008). The fact that the sugar kelp is already declining in the south of the gulf, associated with low genetic diversity, suggests that the *Saccharina latissima* could decrease in the future in the St-Lawrence. This information

suggests that increasing the number of reproductive gametophytes used to make line seedlings could benefit algaculture companies. Increasing the number of local gametophytes will minimize the bottleneck effect created by the sampling giving the low genetic diversity in wild populations. In addition, it will maximize the chances that sporophytes survive a disturbance during growth.

Algaculture has been ongoing since 1992 in the St-Lawrence. Our study did not detect genetic contamination. Indeed, the North Shore, where the culture has been implanted, is genetically differentiated from Chaleurs Bay, which includes the hatchery. The genetic structure does not show genetic similarity between wild populations near industries and the hatchery population (Bonaventure; BON). However, the Magdalen Islands, where sugar kelp was cultured for three years, are grouped with Chaleurs Bay. Given the length of the culture tests and their unsuccessful results, the possibility of the grouping being caused by genetic contamination is unlikely. The present algaculture techniques in Quebec can put wild populations at risk of genetic contamination, specifically in Sept-Îles because this population is genetically differentiated from the hatchery. However, harvesting the algae before its maturity seems to prevent the risk of genetic contamination. In this study, we did not explore the potential presence of local adaptation. To preserve them, we recommend using local spores in the St-Lawrence and all nearby areas. In Maine, the recommendation for the algaculture was also to take local gametophytes (Breton et al., 2018).

Future studies should examine the genome-wide-association of SNP with abiotic parameters such as temperature and salinity to identify regions of the genomes under selection in the different populations. The DarTSeq markers have been selected to facilitate bioinformatic analyses. However, these markers are mainly found in the coding DNA and are less numerous than RadSeq markers which limit the resolution for this type of analysis. The identification of SNP under selection would be helpful for the algaculture industry. The use of mitochondrial markers (COI) could also help to better understand the postglacial history of *S. latissima* in the St-Lawrence.





**CHAPITRE 2**  
**CARACTERISATION GENETIQUE D'UNE IMPORTANTE ESPECE**  
**FONDATRICE : LA ZOSTERE MARINE (*ZOSTERA MARINA*) DE**  
**L'ESTUAIRE ET DU GOLFE DU ST-LAURENT.**

Cet article, intitulé « Genetic characterization of an essential founding species the eelgrass (*Zostera marina*) from the estuary and the Gulf of St-Lawrence. », est en voie d'être soumis pour une publication.

**2.1 RESUME**

Les informations génétiques sur les espèces fondatrices sont essentielles pour mieux comprendre leur diversité et leur structure, ce qui est impératif en cette période de changements climatiques. Ces informations peuvent nous renseigner sur les problèmes présents et futurs qui pourraient avoir un impact sur les écosystèmes. La zostère marine (*Zostera marina*) est une espèce fondatrice dans les écosystèmes côtiers. Cette plante marine a décliné dans plusieurs régions du monde dans les années 1930 avec la « wasting disease » et plus récemment à cause de l'eutrophisation et des changements globaux. Dans le St-Laurent, la zostère semble stable, cependant aucune investigation génétique n'a encore été faite sur cette espèce dans le St-Laurent. Cette étude a pour but de caractériser la diversité et la structure génétique de *Zostera marina* du golfe et de l'estuaire du St-Laurent, grâce à des marqueurs microsatellites et génomiques. L'ADN de plants adultes provenant de dix sites a été extrait et amplifié avec des marqueurs microsatellites et génomiques (DarTSeq). La diversité génétique révélée était relativement élevée. Les analyses de différenciations génétiques avec les marqueurs génomiques ont montré que la présence de quatre populations

était la plus vraisemblable. Ces groupes suivent un patron géographique (1) l'estuaire (2) la Côte-Nord (3) la côte gaspésienne et (4) les Îles-de-la-Madeleine. Considérant cette structuration génétique, il serait bien de privilégier l'utilisation de plants locaux lors des actions de gestion et de conservation dans le St-Laurent.

### 2.1.1 Mot-clé

Génétique des populations ; Marqueurs microsatellites ; Amérique du Nord ; DarTSeq ; Marqueurs génomiques, Zostère

### 2.1.2 Contribution

	<b>Marie</b>	<b>France</b>
<b>Manipulation en laboratoire</b>	X	
<b>Résultats</b>	X	
<b>Rédaction</b>	X	
<b>Correction</b>		X
<b>Gestion du projet</b>		X

## **Genetic characterization of an essential founding species: the eelgrass (*Zostera marina*) from the estuary and the Gulf of St-Lawrence.**

### **2.2 ABSTRACT**

Genetic information about founding species is essential to gain an understanding of genetic diversity and structure, which is vital in a period of global changes. Eelgrass (*Zostera marina*) is a founding species in shallow coastal ecosystems in the northern hemisphere. This seagrass declined in many areas in the 1930s with the “wasting disease” and more recently due to global changes. Seagrass meadows appear stable in the St-Lawrence, but no genetic survey has been conducted in the St-Lawrence. This study aims to characterize the genetic diversity and the genetic structure of *Z. marina* from St-Lawrence's Gulf and estuary, using microsatellite and genomic markers. DNA was extracted from adult plants at ten locations, and microsatellites and genomic markers (DarTSeq) were amplified. The genetic diversity was generally high but some populations had significant FIS. Structure analyses with SNP identified four populations that followed a geographic pattern (1) the estuary (2) the North Shore (3) the Gaspesian coast, and (4) the Magdalen Islands. Considering the high genetic structure, we suggest the use of local plants for restoration.

#### **2.2.1 Keywords**

Populations' genetics; Microsatellites; North America; DarTSeq; Genomic markers; Eelgrass

### 2.3 INTRODUCTION

Assessment of levels of genetic diversity is an essential prerequisite for our understanding of population and ecosystem dynamics. Natural populations will mount rapid responses to natural or anthropogenic environmental perturbations by phenotypic plasticity or genotypic plasticity if they possess sufficient levels of standing genetic variation (Ehlers et al., 2008; Lenfant, 2002; Valadon, 2009). Gene flow between populations may also enhance local adaptation if migrants carry beneficial alleles (Hey and Machado, 2003). Hence populations will be able to persist against environmental stress given a sufficient reservoir of genetic diversity and a little impediment to gene flow. Genetic information in terms of genetic structure and diversity levels is an added value for creating appropriate management and conservation plans.

The eelgrass *Zostera marina* is classified 'Ecologically Significant Species' by the Department of Fisheries and Ocean, Canada. It plays a role in primary productivity, serve as nurseries, feeding sites, and provides refugia from predation for a great diversity of species (Duarte and Chiscano, 1999; Hemminga and Duarte, 2000; Lazzari et al., 2003; Martel et al., 2009). It also plays important abiotic roles such as nitrogen fixation and soil solidification (Hemminga and Duarte, 2000). Eelgrass meadows support fish species of major economic importance (e. g. Atlantic Herring, American eel, Atlantic cod) (Jackson et al., 2001; Martel et al., 2009). *Zostera marina* can use two different reproductive strategies (De Cock, 1980; Phillips et al., 1983). It can use vegetative reproduction (asexual reproduction), using rhizomes to create clonal individuals (Phillips et al., 1983), and/or reproduce sexually (De Cock, 1980). The ratio of the sexual/asexual reproduction used by *Z. marina* depends on environmental factors, particularly salinity rates (Phillips et al., 1983). Individuals at the northern and southern margins of the species distribution reproduce mostly sexually because of high mortality rates due to heat and ice at the margins. Individuals in the core of the geographical range use both types of reproduction. In this zone, meadows in the intertidal area have a higher incidence of flowering, unlike those in subtidal zones that use more vegetative reproduction (Phillips et al., 1983). The choice of reproductive strategy has an

impact on the dispersion. Some of the seeds include a gas bubble which allows them to have a neutral buoyancy allowing them to travel up to hundreds of kilometers with marine currents (Orth et al., 2007). The vegetative reproduction allows a minimal dispersion; successful re-establishment of rhizome fragments is considered to be improbable (Ewanchuk and Williams, 1996). The proportional use between types of reproduction influences the gene flow and the genetic diversity of populations. Sexual reproduction will allow allelic exchange and dispersal between plants from different sites, even if they are several hundred kilometers away (Orth et al., 2007).

Several studies have characterized patterns of genetic structure across the eelgrass geographic range, including the North Sea, Baltic Sea, West, and East Atlantic, Eastern Pacific, and Mediterranean Sea (Becheler et al., 2010; Reusch et al., 2000). At a large scale, four clades were found (1) the Baltic Sea (2) the North Sea (3) the Nova Scotia (Canada), and a group composed of a Britain and a Mediterranean site (Reusch et al., 2000). A positive correlation between geographic and genetic distance suggests isolation by distance (Kamel et al., 2012; Reusch et al., 2000). At a finer scale, this species can be genetically differentiated in a few kilometers (30-50 km) (Becheler et al., 2010; Tanaka et al., 2011). In North America, many studies have been conducted in the USA on the Pacific Coast (Kamel et al., 2012; Wyllie-Echeverria et al., 2010) and the Atlantic Coast (Allcock et al., 2022; Rhode and Duffy, 2004). A study conducted by Allcock et al. (2022) compared two sites collected six times in a decade. This long-term study contains data to understand population dynamics over time; the genetic structure in this area declined in the last years of the study period (2017), but the genetic diversity increased. This suggests that the eelgrass increased sexual reproduction, possibly in response to thermal stress (Allcock et al., 2022).

Globally, many *Z. marina* populations have declined due to various environmental stresses (Auby et al., 2011; Boström et al., 2014; Jahnke et al., 2018). Some of the declines are due to natural causes. For example, in the 1930s, *Z. marina* populations worldwide experienced catastrophic declines due to the “wasting disease” caused by *Labyrinthula zosterae* (Rasmussen, 1977). This protist causes dark brown lesions on leaves until they reach

their totality in a few weeks (Short et al., 1988; Vergeer and Den Hartog, 1994). During this period, 90% of the population in North America disappeared (Den Hartog, 1987; Muehlstein, 1989; Muehlstein et al., 1991). This disease still affects eelgrass; however, only on a local scale (Short et al., 1988; Short et al., 1986). Also, animal activity can have an impact on *Z. marina*. For instance, significant augmentation of herbivores can decimate seagrass beds (Zimmerman et al., 1996). Finally, anthropogenic activities can cause *Zostera* meadows' decline. Eutrophication, siltation, and toxic chemicals are known problems in the coastal zones and destroy aquatic plants (Fortes, 1988; Nixon, 1995; Short and Wyllie-Echeverria, 1996). In addition, global warming negatively influences seagrass beds, particularly with increasing surface water temperature (Ehlers et al., 2008; Hemminga and Duarte, 2000). Furthermore, the emergence of exotic invasive species may also endanger the subsistence of eelgrass (Hemminga and Duarte, 2000; Martínez-Lüscher and Holmer, 2010; Meinesz and Hesse, 1991).

In the St-Lawrence, marine currents have an impact on the eelgrass dispersion. The main currents in the estuary region are due to the fresh water supply from the rivers that will direct surface waters from the upstream to the downstream. The estuarine pump is also present in this region, it is a suction effect of the deep and intermediate layers that call the water from downstream to upstream in the Laurentian channel (Archambault et al., 2017). In the Gulf, many permanent currents are present throughout the year. The Gaspé current originates in the estuary along the south shore of the estuary, along the Gaspé Peninsula to the Magdalen Islands (Savenkoff et al, 1996). Another permanent current is along the west coast of Newfoundland, starting in the Atlantic south of the island to the Strait of Belle Isle (Archambault et al., 2017). The Anticosti gyre is a circular current present west of Anticosti Island south of Sept-Îles (Archambault et al., 2017).

This study aims to characterize the genetic diversity and the genetic structure of populations of *Zostera marina* from St-Lawrence's Gulf and estuary. The use of genomic and microsatellite markers can help to better understand the traces of past declines and the genetic health of actual populations. Our objective was to describe the genetics of *Z. marina*

in the St-Lawrence estuary and Gulf to become a point of comparison for future studies. We hypothesize that the genetic structure of eelgrass populations follows the pattern of the St-Lawrence currents since they are mainly responsible for the dispersal of this species. We expect sites located on the North Shore to be differentiated from other sites because of the presence of a gyre; the Gaspesian current genetically links the estuary, the north Gaspesian Coast, and the Magdalen Islands; the southern Gaspesian shore is more isolated, and this could increase genetic differentiation of these populations. This study aims to deepen our knowledge of St-Lawrence seagrass; this essential information can help create management and conservation plans adapted for Quebec eelgrass populations.

## **2.4 MATERIAL AND METHODS**

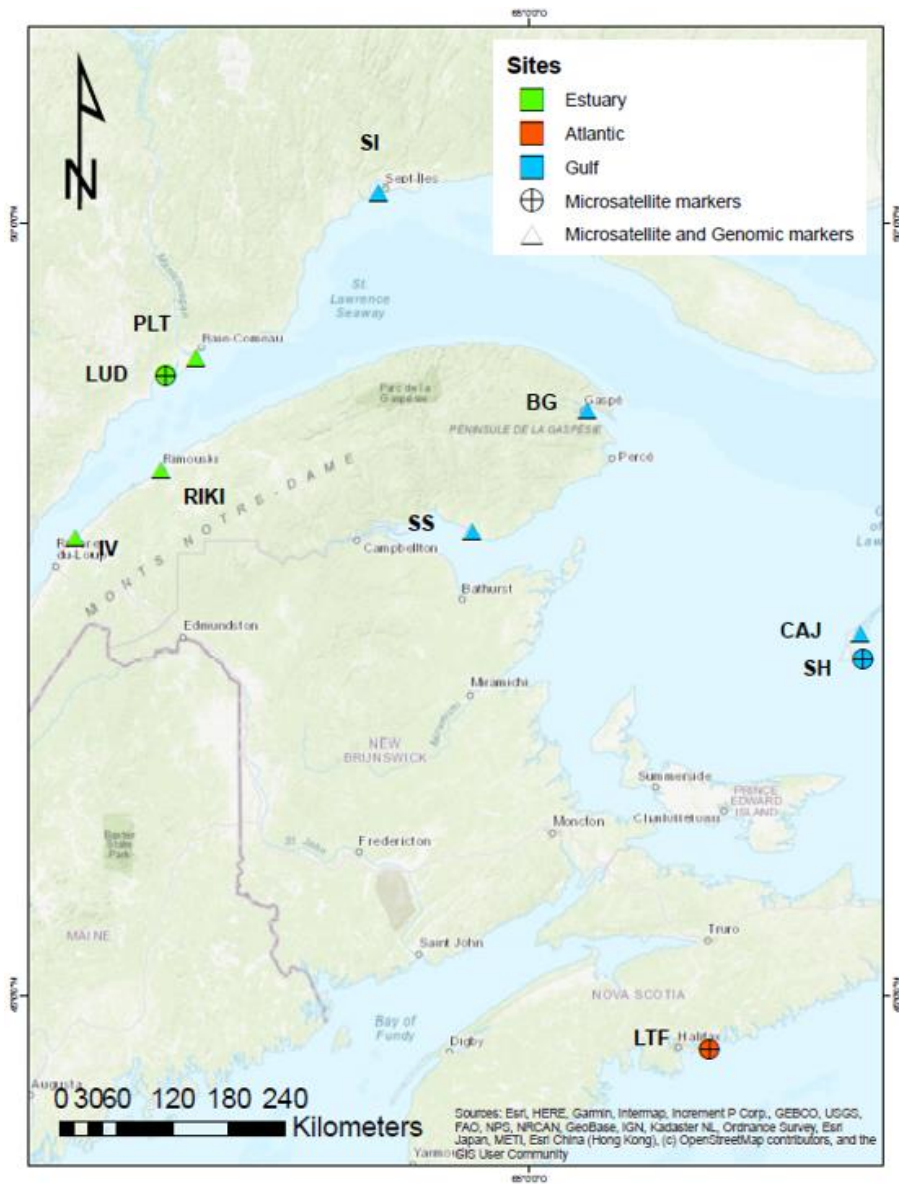
### **2.4.1 Sampling**

Shoots of *Zostera marina* (n = 343) were collected throughout the St-Lawrence estuary and Gulf between 2017 and 2020. Thirty individuals were sampled at each site in the estuary (IV, RIKI, LUD, and PLT), in the Gulf: on the North Shore (SI), along the Gaspesian Coast (BG and SS), around the Magdalen Islands (CAJ and SH) and on the Atlantic Coast (LTF) (**Figure 10; Table 5**). During sampling, individuals were collected more than two meters apart to avoid clones due to vegetative reproduction. All the shoot fragments were placed individually in silica beads until DNA extraction.

**Table 5.** Sampling sites and their GPS coordinates of *Zostera marina* individuals in the St-Lawrence Gulf and estuary.

<b>Site</b>	<b>Latitude (°N)</b>	<b>Longitude (°E)</b>
Île Verte (IV)	48.028968	-69.358337
Rimouski (RIKI)	48.456121	-68.539581
Pointe de Ludger (LUD)	49.076385	-68.318825
Pointe Lebel (PLT)	49.164869	-68.214867
Sept-Îles (SI)	50.236226	-66.422104
Baie de Gaspé (BG)	48.834398	-64.463466
St-Siméon (SS)	48.065921	-65.564118
Cap-à-Jim (CAJ)	47.400778	-61.840410
Sandy-Hook (SH)	47.218495	61.834316
Halifax (LTF)	44.629940	-63.305863





**Figure 10.** Map of the 10 sampling sites for *Zostera marina* in the St-Lawrence Gulf and estuary, Quebec, Canada. The shape of symbols refers to the type of genetic marker used for each sample site (microsatellite and genomic markers).

## 2.4.2 Microsatellite markers

### 2.4.2.1 Extraction

Total DNA was extracted from 3 cm of dry leaf tissue powdered with liquid nitrogen using CTAB and chloroform-isoamyl alcohol (24:1) following Doyle and Doyle (1987), with a subsequent purification with 3M NaOAc. DNA samples were preserved at -20 °C until amplification.

### 2.4.2.2 Amplifications

Seven loci, commonly used for *Zostera marina* and previously described by Reusch et al. (1999) (GA1, GA2, GA3, GA4, GA5, GA6, and CT3; Annex 5), were amplified in a GS0004M Thermal Cycler PCR (G-Storm, Inc., England). PCR mixes contained 1.5 mM of MgCl<sub>2</sub>, 1 X taq buffer, 200 μM of dNTP, 500 nM of forward and reverse primers, and 0.125 U of Taq polymerase. Annealing temperatures for each primer are indicated in Annex 5 and 6. PCR amplifications were sent to Génome Québec (Montréal, Québec, Canada) for migration runs on an ABI3730 xl DNA analyzer. Alleles were scored manually in PeakScanner, Version 1.0 (Applied Biosystems).

### 2.4.2.3 Data analyses

Sequencing errors like stuttering bands, allelic dropouts, and null alleles were verified with the MICRO-CHECKER software version 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2004). Monomorphic loci, loci with more than two missing data, and loci GA1 (which had missing data for most individuals) were removed from the database. After the individual selection, 214 individuals were used which varied from 7 to 29 at each site. All genotyped individuals were unique for at least one locus, and no clonal individuals were detected.

The allelic richness and the inbreeding coefficient (FIS) were estimated in FSTAT, version 2.9.4 (Goudet, 2005). FIS significance was tested with GENODIVE, version 2.0

(Meirmans and Van Tienderen, 2004). Observed and expected heterozygosity (HO and HE) were calculated using GENEPOP, version 4.2 (Rousset, 2008). Finally, deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were assessed in GENEPOP, version 4.2 (Rousset, 2008), using a Markov chain Monte Carlo method (MCMC).

Genetic differentiation indices (FST) were calculated using FSTAT, version 2.9.4 (Goudet, 2005). A discriminant analysis of principal components (DAPC) was performed using the "Adegenet" library (Jombart and Collins, 2015) in Rstudio, version 4.2 (RStudio, 2015). Forty PCs and two linear discriminant functions were retained for the DAPC. STRUCTURE software, version 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) (10000:100000 MCMC and 50 iterations) was used to estimate the most likely number of populations. STRUCTURE HARVESTER, version 0.9.94 (Earl, 2012), and CLUMPAK, version 1.1 (Kopelman et al., 2015) were used to produce the bar plots. Finally, the software BARRIER, version 2.2 (Manni et al., 2004), was used to estimate the position of gene flow barriers. This software uses the GPS coordinates of all sites and the corresponding FST to determine where the gene flow is slowed down.

Analyses of molecular variance (AMOVA) were performed with ARLEQUIN, version 3.5.2 (Excoffier and Lischer, 2010). In addition, multiple permutations were tested using different group structures to demonstrate which group composition best explains the variation.

#### 2.4.3 Genomic markers

The DNA of 161 individuals of *Zostera marina* from seven locations (same as above except for the Atlantic one that was omitted), was sent to Diversity Arrays Technology (DArT) at the University of Canberra (Australia). This company uses genome-complexity reduction methods to obtain thousands of genome-wide SNPs with restriction enzymes and next generation sequencing technology. The sites were located along the St-Lawrence estuary (IV, RIKI, PLT) and in the St-Lawrence Gulf, on the North Shore (SI), along the Gaspesian Coast (BG, SS), and on the Magdalen Islands (CAJ). About 5 to 10 mg of dry

tissue was placed in the extraction plate for each individual and ground into a small powder with tungsten beads and liquid nitrogen. These samples were then sent to Diversity Arrays, Australia to perform sequencing. The "dartR" library (Gruber et al., 2018) in Rstudio (version 4.2) (RStudio, 2015) was used to filter DarTSeq loci and obtain only the informative loci. Five filters were used: (1) all the monomorphic loci, (2) the loci with more than 0.5% of missing data, (3) the duplicate individuals, (4) the individuals with more than 10% of missing data, and (5) the loci which were not at the Hardy-Weinberg equilibrium were removed. No duplicate individuals were detected. A total of 2 130 loci and 151 individuals in seven sites remained and were used for the analyses.

For the genomic diversity, the "dartR" library (Gruber et al., 2018) was used to calculate expected heterozygosity and observed heterozygosity values by population.  $F_{IS}$  indices were calculated with these indices with the following formula, and the significance was calculated by bootstraps with 1000 iterations:  $F_{IS} = (H_E - H_O) / H_E$

A Principal Coordinates Analysis (PCoA) was performed in Rstudio to allow a visual interpretation of the genetic structure of the data. As a complementary analysis, a model-based clustering method was executed with STRUCTURE software, version 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) (10000:100000 MCMC and 50 iterations). STRUCTURE HARVESTER, version 0.9.94 (Earl, 2012), and CLUMPAK, version 1.1 (Kopelman et al., 2015) were used to estimate the deltaK.

## 2.5 RESULTS

### 2.5.1 Microsatellite markers

The final dataset was composed of 214 individuals scored at six microsatellite loci. All ramets had unique genets indicating the predominance of sexual reproduction in these meadows. Observed heterozygosity ( $H_O$ ) values ranged from 0.44 (RIKI) to 0.71 (LTF), and expected heterozygosity ( $H_E$ ) was between 0.39 and 0.69 (**Table 6**). The mean number of

alleles was 4.56 on average per site. Deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were detected at all sites, except CAJ. The heterozygote deficiencies accounted for most of the deviations.  $F_{IS}$  values were significant for three sites (IV, RIKI, and SH).

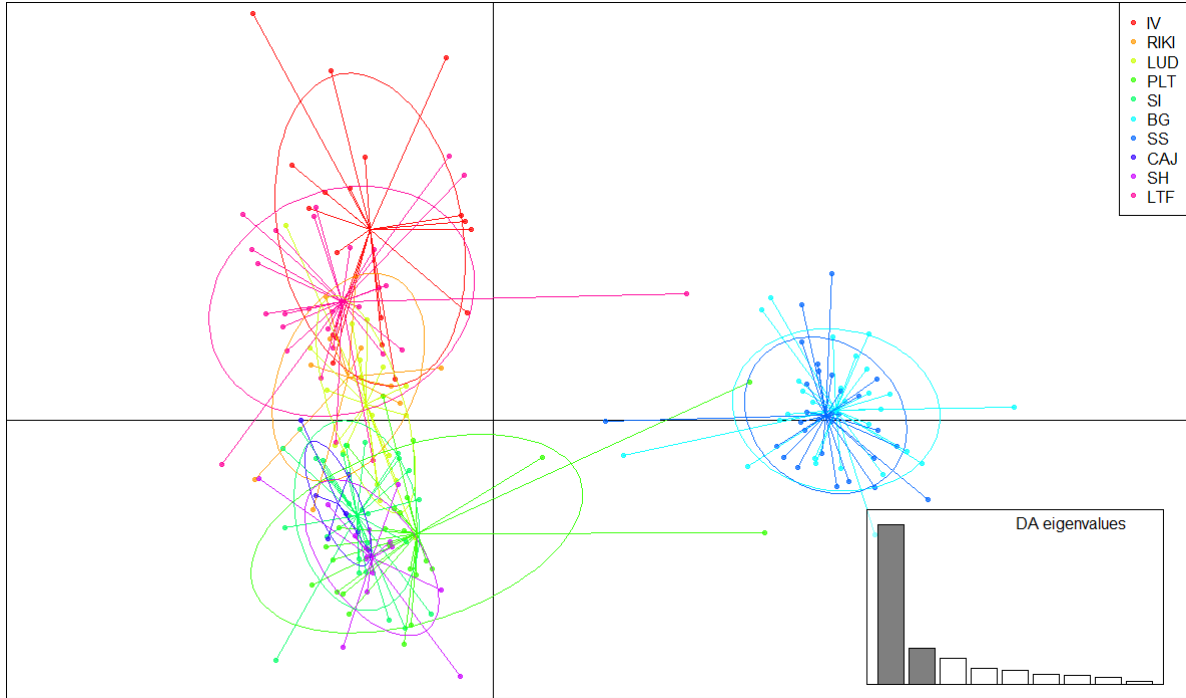
**Table 6.** Genetic diversity indices calculated on six microsatellite markers and 214 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence River and the Gulf. Sample size (n), expected heterozygosity ( $H_E$ ), observed heterozygosity ( $H_O$ ), the mean number of alleles (Alleles), the mean allelic richness (Allelic Richness), the inbreeding coefficient values ( $F_{IS}$ ), Hardy-Weinberg equilibrium and Heterozygote deficiency.

Site	n	$H_E$	$H_O$	Alleles	Allelic richness	$F_{IS}$	HW equilibrium	Heterozygote deficiency
IV	19	0,6885	0,5928	5,83	4,060	<b>0,144</b>	***	<b>0,018</b>
RIKI	10	0,5568	0,4352	3,83	3,286	<b>0,229</b>	***	<b>0,0011</b>
LUD	19	0,3907	0,4448	3,00	2,391	- 0,143	***	0,4498
PLT	25	0,5867	0,6327	4,17	3,170	-0,08	***	<b>0,0155</b>
SI	27	0,5419	0,5841	4,50	3,307	- 0,079	***	<b>0,0008</b>
BG	27	0,4889	0,4866	5,17	3,279	0,005	***	<b>0,0065</b>
SS	29	0,5442	0,5909	6,17	3,552	- 0,088	***	0,1072
CAJ	7	0,5199	0,5357	3,33	3,165	- 0,036	NS	0,2589
SH	15	0,6327	0,5534	4,83	3,751	<b>0,13</b>	***	<b>0,0067</b>
LTF	28	0,6602	0,7125	4,83	3,729	- 0,081	***	0,2671

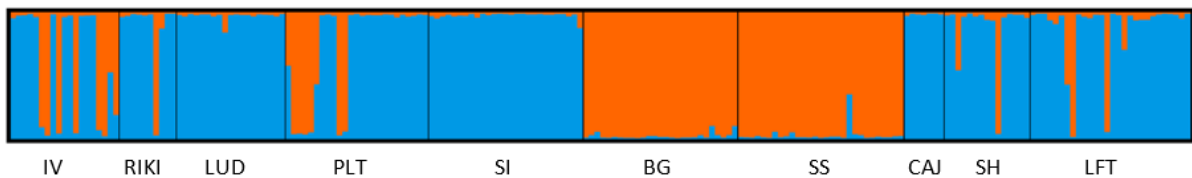
\*\*\*  $p < 0.001$ ; \*\*  $0.001 < p < 0.01$ ; \*  $p < 0.05$  and NS = nonsignificant

*Zostera* populations showed high levels of genetic differentiation, with some pairwise  $F_{ST}$  values of 0.3 (Annex 7). Indeed, all the values except five are significant. The estuarian sites of Île-Verte (IV) and RIKI were divergent from other sites (except CAJ for RIKI). LUD, PLT, SS, and LTF are significantly different from all other sites. Magdalen Islands' sites (CAJ and SH) do not differ from each other. Sept-Îles (SI) is not differentiated from Magdalen Islands sites (CAJ, SH).

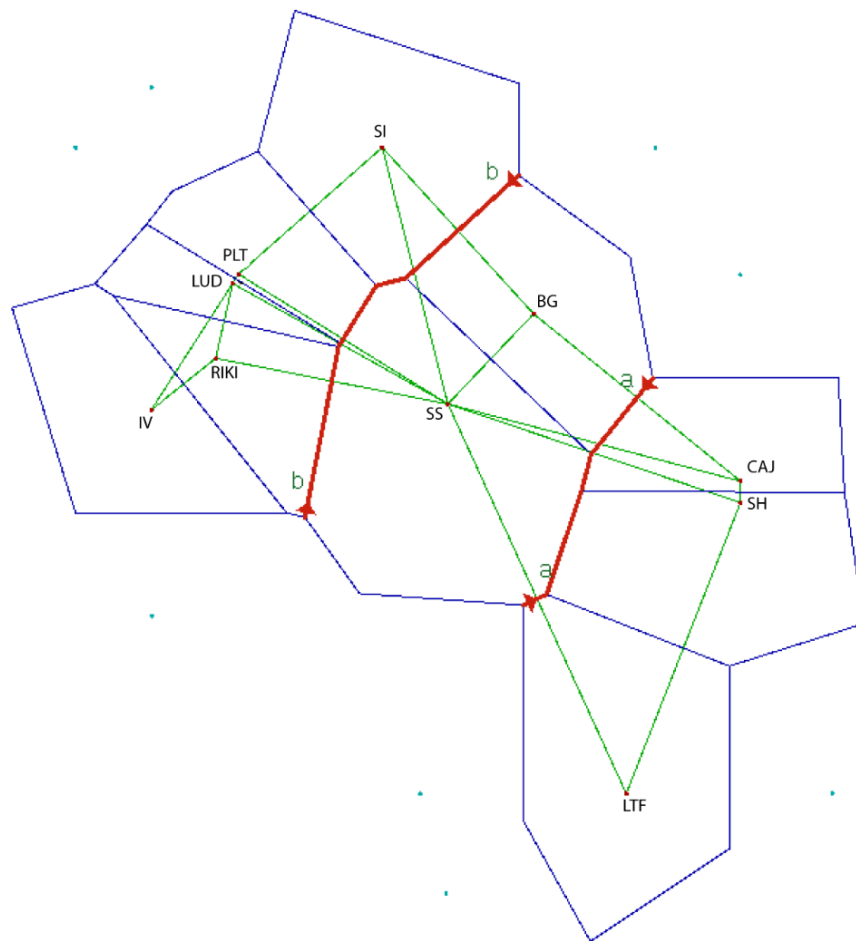
The discriminant analysis of principal components (DAPC), revealed the presence of two differentiated groups (**Figure 11**). The first one included BG and SS, and the second included all the other sites (IV, RIKI, LUD, PLT, SI, SH, CAJ, and LTF). STRUCTURE analysis determined that the presence of two populations was the most likely scenario. The deltaK probability that two groups ( $k=2$ ) are the most likely possibility. The populations characterized by STRUCTURE are in line with the DAPC results (**Figure 12**). Visual observation reveals that 17 individuals in the second group (IV, RIKI, PLT, SH, and LTF) belong to the first group (BG and SS). The BARRIER analysis shows the presence of barriers that isolate the Gaspesian sites (BG and SS) (**Figure 13**). Various AMOVAs were performed, and the most significant structure was composed of two groups (1: IV, RIKI, LUD, PLT, SI, CAJ, SH, and LTF and 2: BG and SS) (**Table 7**). This structure explains 18.81% of the variation, with a p-value lower than 0.0001. AMOVA results confirm the suggested structure by STRUCTURE, BARRIER, and the DAPC.



**Figure 11.** Discriminant analysis of principal components (DAPC) performed on the six microsatellite markers and the 214 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence.



**Figure 12.** Genetic clustering identified by a Bayesian approach in STRUCTURE analysis performed for the six microsatellite markers and the 214 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence River and Gulf. Every bar between two black lines represents an individual in one site.



**Figure 13.** Genetic boundaries (red lines) positioned by the software BARRIER (version 2.2) based on genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) and Delaunay triangulation of GPS coordinates (thin line). Analysis was performed on the six microsatellite markers and the 214 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence estuary and Gulf.



**Table 7.** Analysis of molecular variance (AMOVA). The first group includes IV, RIKI, LUD, PLT, SI, CAJ, SH, and LTF, and the second one is BG and SS.

Source of variation	d.f.	Sum of Squares	Variance components	Percentage of variation	p-value
Among groups	1	62.000	0.33468	18.81	0.00000
Among populations within groups	8	46.626	0.11771	6.62	0.00000
Among individuals within populations	196	240.263	-0.10068	-5.66	0,99902
Within individuals	206	294.000	1.42718	80.23	0,00000
Total	411	642.888	1.77889	100	

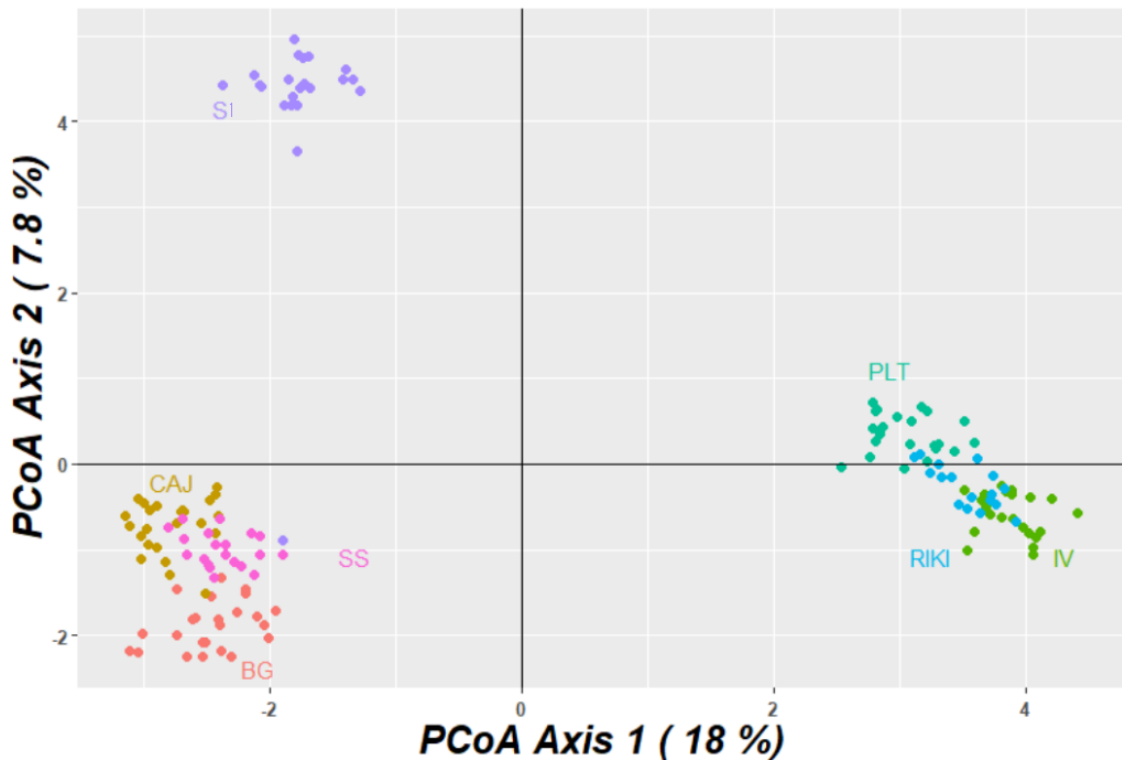
### 2.5.2 Genomic markers

About 6 365 DarT loci specific for *Z. marina* were amplified. The final dataset included 2 130 loci and 151 individuals from seven sites. Each site had between 17 and 24 individuals. Genetic diversity using genomic markers was low (**Table 8**), and observed heterozygosity ( $H_O$ ) values ranged from 0.048 (PLT) to 0.092 (CAJ). Expected heterozygosity ( $H_E$ ) values were similar, ranging from 0.051 (IV and RIKI) to 0.091 (CAJ).  $F_{IS}$  values were low (0.001 to 0.063) but all significant.

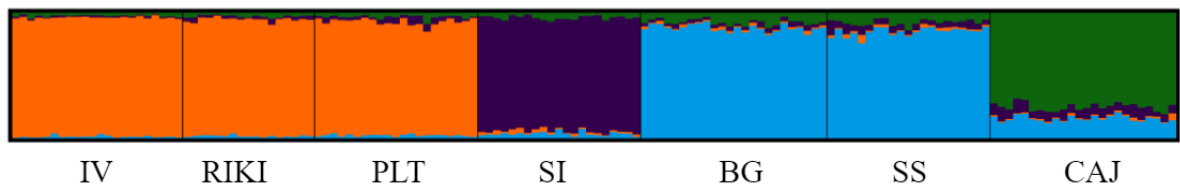
**Table 8.** Genetic diversity indices calculated on genomic markers scored on 151 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence River and Gulf. Sample size (n ind), number of loci used by pop (n loc), observed heterozygosity ( $H_o$ ), and expected heterozygosity ( $H_E$ ).

	n ind	n loc	$H_o$	$H_E$	$F_{IS}$
IV	22	1530	0.050	0.051	<b>0.015</b>
RIKI	17	1537	0.051	0.051	<b>0.001</b>
PLT	22	1385	0.048	0.052	<b>0.063</b>
SI	21	1807	0.079	0.078	<b>-0.040</b>
BG	24	1847	0.073	0.069	<b>-0.060</b>
SS	21	1942	0.075	0.072	<b>-0.039</b>
CAJ	24	1807	0.092	0.091	<b>-0.010</b>

The principal coordinate analysis (PCoA) revealed three clear groups with 18% of the variation explained by this grouping (**Figure 14**). The first group includes sites from the Gaspesian Coast and the one from Magdalen Islands (CAJ, SS, and BG); the second group includes the estuarine sites (PLT, RIKI, and IV), and the third the North Shore site (SI). Four populations are the most likely scenario (deltaK) under STRUCTURE (**Figure 15**). The only difference is the Magdalen Islands site (CAJ), which is now differentiated from the Gaspesian population (SS and BG). The sites are grouped geographically: (1) the estuary (IV, RIKI, and PLT) (2) the North Coast (SI) (3) the Magdalen Islands (CAJ), and (4) the Gaspesian Coast (BG and SS).



**Figure 14.** Principal Coordinate Analysis (PCoA) results based on 2 130 SNP from individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence estuary and Gulf. Each point represents an individual, and each color corresponds to one site.



**Figure 15.** Genetic clustering identified by a Bayesian approach in STRUCTURE analysis performed on 2 130 genomic markers from individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence estuary and Gulf. Every bar between two black lines represents an individual in one site.

## 2.6 DISCUSSION

We provide here the first genetic characterization of *Zostera marina* (eelgrass) in the St-Lawrence estuary and Gulf. Since no past genetic information on *Z. marina* in the St-Lawrence was available, this investigation provides essential knowledge to assess the genetic health of these founding populations.

Observed heterozygosity levels of *Z. marina* from the St-Lawrence were higher than what was previously found in populations from San Francisco (Orth et al., 2007), and from France (Brittany) (Becheler et al., 2010) and similar to the ones from Bodega Bay and Tomales Bay in Northern California (Kamel et al., 2012; Muniz-Salazar et al., 2005). The average allelic richness was around 3.5 in the St-Lawrence, similar to the one found in San Francisco (3) (Ort et al., 2012), lower than in Northern California (5.19) and Brittany (5.01) (Becheler et al., 2010; Kamel et al., 2012). This could be explained by the fact that all these studies did not use the same loci precisely as us. Three of the sites had significant but small inbreeding coefficients. The high diversity and low inbreeding can be because the eelgrass meadows are expanding in the St-Lawrence, probably because of the increasing water temperature. Studies have shown that genetic diversity is positively correlated to the resistance and resilience of ecosystems (Ehlers et al., 2008). A large genetic diversity will provide better resistance to *Z. marina* when perturbations will occur, particularly the increasing water temperature (Ehlers et al., 2008). Duffy et al. 2022 show that populations from the Atlantic Ocean were less diversified than those in the Pacific Ocean.

For genomic and microsatellite markers, no ramets (clonal individuals) were found, and all sampled plants were genetically unique for at least one locus. We sampled plants that were at least two meters apart to minimize the probability of sampling ramets. Our results suggest that the intertidal meadows we sampled reproduce predominantly by sexual reproduction.

Genomic markers (DarT) showed more structure than microsatellite markers in this study. Only two populations were identified by structure using microsatellite markers: (1) the Gaspesian Shore and (2) the estuary, North Shore and Magdalen Islands. Four groups

were found using SNP; (1) the estuary (2) the North Shore (3) the Gaspésian Shore, and (4) the Magdalen Islands. Such structure can be explained by limitations of dispersion due to marine currents, post-glacial recolonization, temperature, or salinity gradient. This genetic structure could be due to the dispersion of the *Z. marina* by marine currents. The fact that the North Shore is genetically isolated from others can be due to the presence of the Anticosti gyre in this area. It is a circular marine current located in the Gulf west of Anticosti Island and just south of Sept-Îles (Archambault et al., 2017), which can be a barrier to the gene flow. The Gaspé current is a marine current originating in the estuary longing on the south shore of the estuary and the Gaspé Peninsula to the Magdalen Islands (Savenkoff et al, 1996). This current can explain the isolation of the South Gaspesian Shore; the seed from the other part of the St-Lawrence could be carried away from the current in the direction of the center of the Gulf. The fact that the Magdalen Islands are in a separate group could be due to the distance from the other sites.

The abundance of *Zostera marina* populations in the St-Lawrence has been evaluated in 2009 and considered stable and even increasing in some sites (Martel et al., 2009). Since then, very few studies have monitored eelgrass conditions in the St-Lawrence. In other parts of the world, eelgrass is declining. On the Swedish coast, 60% of the meadows have decreased since the 1980s (Jahnke et al., 2018). Denmark reported a loss of 80-90% of the historical population of *Z. marina* (Boström et al., 2014). This type of decline has been reported in Europe and USA (Auby et al., 2011; Koch and Beer, 1996). In Nova Scotia, near our study area, declines are mainly caused by an exotic invasive species, the green crab, that destroys eelgrass beds. Eelgrass bed stability in the St-Lawrence can be explained by the fact that this is the northern part of the distribution of the species. In this zone, the water temperature is cold so the warming of waters has not reached a temperature that affects seagrass growth in the area. There is an exception for the heat waves phenomena that can affect the intertidal beds of the St-Lawrence, especially in the Baie des Chaleurs or in the shallow lagoons of the Magdalen Islands. The high temperature lowers the growth and the photosynthesis process, increasing the mortality of *Z. marina* (Hammer et al., 2018; Nejrup and Pedersen, 2008). Furthermore, low temperatures (less than 5 °C) also slow the growth

and the photosynthesis process of eelgrass, as the optimum temperature is between 10 and 20 °C (Nejrup and Pedersen, 2008). In the St-Lawrence estuary, the water temperature has increased from 3-3.5°C before 1940 to 5.5 °C in 2020 (Bernier et al., 2018).

The absence of past genetic studies of *Z. marina* in the St-Lawrence represents a limitation in interpreting our results because temporal comparisons are not possible. To fill this problem with future investigations, it would be interesting to identify meadows in expansion and in decline with satellite images and compare their genetic indices. If there are eelgrass individuals from the St-Lawrence kept in museums, studying them could help because it would allow to extract DNA from older individuals. Also, a long-term study could help to understand the dynamic of eelgrass populations in the St-Lawrence (Allcock et al., 2022). The number of sites studied in this investigation could have been higher, in particular on the North Shore and in the Gulf South, to get a better representation of the genetic diversity and structure. This study was conducted in part with microsatellite markers; adding more loci could have helped to gain a better resolution. For the genomic markers, DarTSeq markers were chosen to facilitate analyses. However, these markers were developed on coding DNA, so they are less numerous than other genomic markers like RadSeq, for example. This could reduce the resolution of the analyses.

In the future, it would be interesting to investigate the presence of local adaptations in St-Lawrence populations. Local adaptations are really important for species because they help them to persist in different habitats (Lowry, 2012; Miller et al., 2019). In the context of global changes, these adaptations are essential for species to cope with the upsurge of disturbances. For example, in Australia, individuals of seaweed were more resistant to high temperatures if they had grown in a higher temperature environment or experienced frequent heat waves than if they grew in a colder zone (Miller et al., 2019). Analyses to detect local adaptations could be done to better understand the structure and the resistance of meadows in the St-Laurence. Markers under selection will help to investigate the adaptive potential of *Z. marina* in the context of global changes. With the advance of the sequencing of the whole

genome of *Zostera marina*, it would be possible to identify genes associated with favorable characteristics of eelgrass (Duffy et al., 2022).

Our study provides essential information that will help create management and conservation plans adapted to the reality of Quebec eelgrass populations. The South Estuary ZIP Committee has implemented conservation actions for the eelgrass since 2013 (Pothier et al., 2014). Conservation efforts include taking individuals from a donor meadow to transplant them into a restocking bed (Pothier et al., 2014). The procedure is done with meadows in close proximity. Our recommendations are to continue using local donors and avoid mixing genetically distinct populations.

## CONCLUSION GÉNÉRALE

L'objectif principal de mon projet de maîtrise était de caractériser la diversité et la structure génétique des populations de deux espèces fondatrices, la zostère marine (*Zostera marina*) et la laminaire sucrée (*Saccharina latissima*) dans l'estuaire et le golfe du St-Laurent grâce à des marqueurs microsatellites et génomiques. Elles ont toutes deux une importance écologique et économique majeure (Hemminga et Duarte, 2000; MPO, 2006, 2009) puisqu'elles supportent des écosystèmes diversifiés, riches et productifs dans le système côtier du St-Laurent. Elles occupent des rôles primordiaux pour soutenir la persistance d'un grand nombre d'espèces marines en étant des refuges contre la prédation, des aires de reproduction, des zones d'élevage pour les jeunes, des sites d'alimentation, etc. (Dayton, 1985; Gaines et Roughgarden, 1987; Hemminga et Duarte, 2000; Smale et al., 2013). Ces deux espèces sont cependant très peu documentées dans le St-Laurent. Dans un contexte de changements globaux et de fortes activités humaines, il est très important d'avoir un maximum d'informations sur la génétique des populations afin de mieux connaître les risques qu'elles encourent et de mettre en place des actions de conservation et de gestion appropriées. D'abord, la diversité génétique informe sur la capacité d'adaptation face à des perturbations puisqu'elle est le reflet du potentiel adaptatif de l'espèce et de la santé de l'écosystème qu'elle supporte (Ehlers et al., 2008; Hughes et Stachowicz, 2004; Kamel et al., 2012). Ensuite, la structure génétique permet de mieux comprendre le flux génique dans l'aire d'étude et ainsi de mettre en place des plans de gestion et de conservation plus adaptés à la protection de la totalité des populations génétiques (Glowka et al., 1996). Pour obtenir ces informations, deux types de marqueurs ont été utilisés, soit les marqueurs microsatellites et génomiques (DarTSeq). L'utilisation de ces deux types de marqueurs se complète. En effet, les marqueurs génomiques ont souvent plus de résolution que les marqueurs microsatellites pour déterminer la structure génétique des populations puisqu'ils sont utilisés en très grand nombre et sont plus répartis dans le génome (Guzinski et al., 2020). Les microsatellites sont moins



dispendieux et plus simples d'utilisation. Ils fournissent plus d'informations par locus puisqu'ils présentent un grand nombre d'allèles par locus tandis que les marqueurs génomiques sont bi-alléliques.

La première partie de ma maîtrise a été de caractériser la diversité et la structure génétique des populations de laminaires sucrées (*Saccharina latissima*) dans le St-Laurent. Pour cette partie, le sous-objectif était d'évaluer si une contamination génétique des populations sauvages, par la présence d'individus descendant d'un autre site sur des filières en eau libre, était détectable à ce jour et s'il existait des risques pour le futur de ces populations sauvages. Cela a été évalué grâce à des sporophytes adultes collectés dans l'estuaire et le golfe du St-Laurent. Parmi les sites de récoltes se trouvaient des individus provenant du site source de l'écloserie (Bonaventure), des sites à proximité des filières et des populations sauvages. Les résultats ont montré que les *S. latissima* du St-Laurent avaient une faible diversité génétique et que plusieurs populations étaient consanguines. Les niveaux de diversité génétique des populations du St-Laurent se comparent à celle d'autres populations du nord-ouest de l'Atlantique (Neiva et al., 2018). Certaines populations d'Europe présentent une diversité génétique deux fois plus grande que les populations du St-Laurent (Guzinski et al., 2020). Ceci résulte de l'histoire phylogéographique de cette espèce (Bringloe et Saunders, 2018; Neiva et al., 2018). Pour les macroalgues, la recolonisation postglaciaire s'est faite en partie par les individus se trouvant dans les refuges glaciaires, donc un faible nombre de refuges dans une région pourrait engendrer une faible diversité génétique (Bringloe et Saunders, 2018).

Cette structure montre la présence de trois populations ; (1) l'estuaire et le nord de la Gaspésie, (2) la Côte-Nord et (3) la côte sud de la Gaspésie et les Îles-de-la-Madeleine. La séparation des laminaires en trois groupes distincts correspond à l'hypothèse selon laquelle le flux génique est porté par les courants marins dans le St-Laurent. Le site des Îles-de-la-Madeleine fait exception puisqu'il se retrouve dans le même groupe que les sites du sud de la Gaspésie et non ceux du nord de la Gaspésie et de l'estuaire. Cela pourrait être dû au fait que le courant gaspésien, qui se rend jusqu'aux Îles-de-la-Madeleine, ne soit pas assez fort

pour disperser les gamétophytes et les spores aussi loin puisqu'il se dissipe après la pointe gaspésienne (St-Lawrence Center, 1991). Cette hypothèse est donc partiellement validée.

Un autre objectif était d'examiner l'effet de s l'algoculture. L'utilisation de filières provenant uniquement de Bonaventure soulevait des risques sur la possibilité d'une contamination génétique des populations sauvages autour des filières. Le site le plus à risque dans notre échantillonnage était le site de Sept-Îles puisqu'il est situé à des centaines de kilomètres du site source de l'algoculture (Bonaventure). Le risque de contamination génétique au niveau des Îles-de-la-Madeleine est moindre puisque les essais de culture de laminaire sucrée ont duré trois ans seulement et le rendement était très faible (Bénard-Déraspe et al., 2019). Les analyses ont montré que les individus collectés à Sept-Îles sont génétiquement différenciés des individus provenant du site source de l'écloserie. Ceux situés aux Îles-de-la-Madeleine font partie du même groupe que les individus de Bonaventure, mais cela pourrait être naturellement le cas. Donc, l'hypothèse selon laquelle la culture de laminaire sucrée dans le St-Laurent pourrait contaminer les populations sauvages n'a pas été validée. Aucune contamination génétique n'a été détectée lors de cette étude, cependant, il existe un risque que les populations soient contaminées dans le futur si les méthodes d'algoculture ne changent pas. D'abord, il se pourrait que la contamination génétique ne soit pas détectable à ce jour, mais qu'elle ne le soit dans un futur proche. Ensuite, les analyses utilisées n'ont pas examiné l'effet de la sélection sur la génétique des populations de zostères et de laminaire. Ainsi, des adaptations locales peuvent être présentes dans les populations, mais sans être détectées par les analyses utilisées. Ces adaptations locales sont toutefois très importantes puisqu'elles sont propres à chaque population et sont essentielles à leur adaptation face aux conditions environnementales dans lesquelles elles évoluent (Joshi et al., 2001; Lowry, 2012). Sachant qu'il existe plusieurs populations génétiques dans le St-Laurent, nous recommandons fortement d'utiliser des géniteurs locaux. Une telle recommandation peut être trop sévère pour les fermes algocoles, car elle demanderait d'avoir plus d'écloseries et beaucoup plus d'individus géniteurs. Un bon compromis serait d'utiliser, au minimum, des géniteurs qui appartiennent à la bonne population génétique pour limiter les transferts d'individus d'origine anthropique entre différentes populations génétiques. Par

exemple, si la filière est installée à Sept-Îles alors il faudrait utiliser des géniteurs provenant de la population identifiée Côte-Nord plutôt que ceux venant de la population de la Gaspésie. Une étude faite dans le Maine, aux États-Unis, recommande, elle aussi l'utilisation de spores locales (Breton et al., 2018).

La deuxième partie de ma maîtrise a été de caractériser la diversité et la structure génétique des populations de zostère marine (*Zostera marina*) dans le St-Laurent. Cela a été évalué grâce à des individus adultes collectés dans l'estuaire et le golfe du St-Laurent. Les résultats ont montré que la diversité génétique des populations du St-Laurent était plus élevée que ce qui était attendu suite au goulot d'étranglement des années 1930 et seuls trois des sites présentaient de la consanguinité avec les marqueurs microsatellites. Ensuite, la structure génétique a été analysée et les marqueurs génomiques ont permis d'obtenir plus de résolution. Grâce à ces marqueurs, quatre populations distinctes ont été détectées ; (1) la Côte-Nord (2) l'estuaire (3) la Gaspésie et (4) les Îles-de-la-Madeleine. Comme pour les laminaires, ces populations étaient attendues. L'hypothèse selon laquelle les courants marins sont responsables du flux génique dans le St-Laurent est donc validée. Étant donné cette structuration dans le St-Laurent, nous recommandons l'utilisation d'individus provenant de la même population génétique pour la restauration d'herbiers. Nous suggérons aussi de sélectionner l'herbier en santé le plus proche de celui à restaurer puisqu'il pourrait y avoir des adaptations locales qui n'ont pas été évaluées dans la présente étude.

Cette étude présente quelques limites. D'abord, comme mentionnée plus tôt, aucune information génétique sur le passé de nos deux espèces n'est disponible afin de les comparer avec nos résultats ce qui limite l'interprétation pour les populations du St-Laurent. Pour l'interprétation de leur diversité génétique, il est difficile de distinguer quelles valeurs peuvent être considérées comme normales pour ces espèces dans l'aire d'étude et lesquelles peuvent être considérées comme liées au déclin présent ou passé des populations dans le St-Laurent. Pour combler cette problématique, il faudrait identifier des sites précis en expansion et d'autres en déclin grâce à des images satellites pour ensuite comparer leur diversité génétique respective. Aussi, la recherche d'individus conservés dans des musées pourrait

aider puisque cela permettrait, s'il en existe pour le St-Laurent, d'extraire l'ADN d'individus plus anciens. Ensuite, l'augmentation du nombre de sites et d'individus pourrait aider l'interprétation des résultats. Sur la Côte-Nord, seule Sept-Îles a été échantillonnée, alors qu'avoir d'autres populations de la Côte-Nord et d'Anticosti pourrait être intéressant pour comparer la génétique des populations de la même région. Cela aurait d'autant plus été intéressant pour les laminaires puisque le site de Sept-Îles est d'intérêt principal pour l'algoculture. Aussi, la collecte d'individus de zostères et de laminaires sur des sites plus proches des Îles-de-la-Madeleine pourrait aider à comprendre pourquoi celle-ci se retrouve dans le même groupe que le sud de la Gaspésie. Ces sites pourraient se situer dans le sud du golfe (Nouveau-Brunswick, Nouvelle-Écosse et Île-du-Prince-Édouard). Pour les marqueurs génomiques, les marqueurs DarTSeq ont été sélectionnés pour faciliter l'analyse bio-informatiques, cependant ce sont des marqueurs qui se retrouvent principalement dans l'ADN codant, donc ils sont moins nombreux que les marqueurs RadSeq par exemple, ce qui pourrait limiter la résolution. De plus les analyses avec DartSeq pourraient être faites en visant les loci sous sélection dans le but d'identifier des adaptations locales. Pour *Saccharina latissima*, une des limites à propos des SNPs est qu'ils ont été développés à partir d'une autre espèce soit *Saccharina japonica*, car le génome de *S. latissima* n'a pas encore été entièrement séquencé. Ainsi, les SNPs analysés ne sont pas spécifiques à l'espèce ce pourrait engendrer une perte d'information et donc de résolution.

Dans le futur, plusieurs aspects pourraient être approfondis. Dans un premier temps, il serait intéressant d'effectuer des séquençages à faible couverture ou du PoolSeq pour identifier un plus grand nombre de SNPs en association avec les facteurs abiotiques. Ainsi, comme ils sont soumis à la sélection, ils pourraient apporter de nouvelles informations à propos des adaptations locales des zostères marines et des laminaires sucrées du St-Laurent (Lowry, 2012). Notre étude n'a pas traité de ces adaptations, mais elles pourraient suggérer une structuration plus fine puisque les sites offrent des conditions environnementales différentes. Pour la culture des laminaires, il serait important d'identifier des gènes qui sont responsables de traits morphologiques avantageux, par exemple, la longueur de la fronde ou son ornementation pourraient être un atout dans la maximisation du rendement. Pour les

zostères, la contribution relative de la reproduction sexuée/végétative des herbiers médiolittoraux et infralittoraux serait intéressante pour mieux comprendre la dynamique populationnelles des herbiers.

En conclusion, cette étude contribue à l'avancée des connaissances génétiques des espèces dans le St-Laurent. Il s'agit de la première étude pour l'analyse génétique des populations d'algues et de plantes marines dans cette région. Les informations récoltées vont pouvoir servir de points de comparaison à des études futures pour valider d'éventuelles pertes de diversité génétique. Elles pourront aussi être une ligne directrice pour les plans de gestion, de conservation et de culture des zostères et des laminaires.

## ANNEXES

**Annex 1.** Table of all loci amplified, the multiplex to which they belong, their primer sequences, dye, and repeat motif for *Saccharina latissima* analyses.

<b>Locus</b>	<b>Multiplex</b>	<b>Primers</b>	<b>Dye</b>	<b>Repeat motif</b>
Sacl-03_F_PET	1i	F : GTTGTTACGGTTGGCGTTG R : TTCAATAATCGCAGGAAGCAC	PET	di
Sacl-09_F_PET	1i	F : ACCGTTCCCAATAACTACCC R : ATGGACCTATCGCCACA	PET	tri
Sacl-11_F_FAM	1i	F : AAGAGGTGGTTGCTCGGTT R : CACTGATGGATGCCCTGTC	FAM	tri
Sacl-25_F_NED	1i	F : TTCGTTTCAGTTGGTGGGTT R : TGCTGTAGTAGTGATTCTTCGCC	NED	tetra
Sacl-37_F_NED	1i	F : AACCGCTCTTTGTGTTTGATG R : CTCCTTTCCCTCCCTCTCC	NED	tetra
Sacl-47_F_FAM	1i	F : CGACACAATCGCAGTCAG R : GCCCGACACACACTCAAGAC	FAM	penta
Sacl-74_F_PET	1i	F : CCTAAAGTTCTACCTGGGCAA R : TCACAAGGACCACATTCCAAC	PET	tetra
Sacl-06_F_PET	1ii	F : TTTGTAGATAGTGCCGCTGGT R : GTAGCCTGCCGAAGAAATAAA	PET	di
Sacl-54_F_NED	1ii	F : CGACGCTGACCTGACACA R : CCTTCCAATCTCTTCCTTCCA	NED	di
Sacl-94_F_VIC	1ii	F : TGCCAAATAACACATTCCAGAG R : TGGTGCGAAGTCACGAAATAG	VIC	penta
Sacl-19_F_PET	2i	F : GCGTATTCCTAAACACCTCCC R : CGATGACTGCCACCACAG	PET	tri
Sacl-24_F_PET	2i	F : GCCAACCTATCATTCAAAGCA R : TGTGGGAGCAACATCCTCA	PET	tri
Sacl-38_F_NED	2i	F : TACGATTGCGTGCGTTGT R : ACGAAGAGATTGCGACCAAA	NED	di
Sacl-65_F_PET	2i	F : ATCTCCCAAACCACACAAG R : CATCATCGTCAAGAACTCGG	PET	tri
Sacl-68_F_FAM	2i	F : GGTGGGATTCTTTGGACGA R : AAATGTGCTTGGGTCGGG	FAM	tri
Sacl-95_F_VIC	2i	F : GGGAAAGGAGGAAGAAGGTG R : TAGCGGGAAGAACGGGTAGT	VIC	penta
Sacl-49_F_NED	2ii	F : GCTCTCCACCTCGCACTAA	NED	di

Sacl-66_F_PET	2ii	R : TACCGTCAGCCTCCCAGA F : TATGTATGTCGGGAGACGGG	PET	tri
Sacl-81_F_FAM	2ii	R : GGGATTAGCAACTGAAACCA F : ACTTTGGCTCGGTCTGCTT	FAM	di
Sacl-90_F_PET	2ii	R : CCTCCTCCCTTACCTACCTCC F : ATGTGTTGCTGGATGAGGAC	PET	tetra
Sacl-13_F_FAM	3i	R : ACCTCCGCTCTCTCGCT F : CTCAGGTGTTTCGGTGCCCT	FAM	tri
Sacl-21_F_FAM	3i	R : GCTCGGTAGATGGTTAGTC F : TCTCAACTCCAAACAGAGCGT	FAM	tri
Sacl-27_F_NED	3ii	R : AGCAGCAGAAGCAGGCGA F : GCGTTTGGTTAGCAGTGTGA	NED	di
Sacl-32_F_PET	3i	R : GTGCCCTCCCTACTCCCGT F : CTCGCTTGCTGCTTGCTC	PET	tetra
Sacl-56_F_VIC	3ii	R : CTTTCGCCGTCACCTACTACA F : GGAGAGCGTCGGATAGACC	VIC	di
Sacl-78_F_FAM	3i	R : GAGAATAGCACAGCAGCGAAC F : GTTGGTCGTGCTTCTAATCGG	FAM	tetra
Sacl-08_F_PET	3iii	R : GTCCATTTCTTGCTGTCGTG F : CAGACCTCACCAAGGCAAAG	PET	di
Sacl-33_F_FAM	3iv	R : TCCACGCACATACAGCAAA F : TTTCCGCTCTGTCTCTCCT	FAM	tetra
Sacl-41_F_VIC	3iii	R : AAATCACAACACAAGGCTGCT F : GTGGCGTTAGATGCTGTATGG	VIC	penta
Sacl-60_F_VIC	3iv	R : CGTGGACAAAGTAGGAAAGGG F : GTCCAGGTGCGTGCGTTAG	VIC	tri
Sacl-75_F_NED	3iv	R : GCGAGCAGTTGAAAGGTGG F : CTCGTGTCGTCCCTTCATC	NED	di
Sacl-88_F_PET	3iii	R : CTGTCTCCCAGAACTCGCC F : GAAACGGTGACTGACTGATGAC	PET	di
SLN 319 F_FAM	4	R : ACAAGGACGAACAGAGAACGA F : CGAAGGAAGTGAATGACAACAA	FAM	tri
SLN 320 F_NED	4	R : GGTAGTTACGGATTGCGACAAG F : TACGATGGTTTATGGGTTAGGG	ATTO550	tri
SLN 34 F_VIC	4	R : AGCGAACAACGAAGCAACTAAT F : ACGAAGTGCTAATAATGTGCCG	HEX	tri
SLN 35 F_PET	4	R : GAGATAGCCCCGACCACTGC F : GCGTATGAACAAAATGACCGTA	ATTO565	tri
SLN54 F_VIC	5	R : TGTGAGTTCCTTTCTTGTGAGC F : GTGGTTGCTGTTGTTGCTGT	HEX	penta
SLN510 F_NED	5	R : CGAATAAAGACAAATCGGCTG F : CCGTCTATGGCGAGAAAGAGAT	ATTO550	penta

SLN 32 F_PET	5	R : ATCTTACCTGGGCACTTGCTTT F : GAGAAAACATGCCCAGGTCTA	ATTO565	tri
SLN 36 F_FAM	5	R : GTATCGCTGTACCCTCCTCCT F : CGAGACTTTTGGGTAGATTTTCG	FAM	tri
SLN62 F_PET	6i	R : CGCCTGCCTCTTGTCTAAGTA F : ACAAAGCGTTCTCAACCGAT	ATTO565	tri
SLN 58 F_FAM	6i	R : CGACACCCTACACAATAGAAA F : GCGAAGAAACGAGGGTTACAT	FAM	penta
SLN511 F_VIC	6ii	R : CTGGGTTTGTTCGAGTGTTGAT F : ATGTCCTGACCTGACCTACAGC	HEX	penta
SLN314 F_NED	6ii	R : AATTCTGTGAACATTCGGGAGT F : CTGTGTGTGTTGTCGTACATCG	ATTO550	tri
		R : GGATTTCTTATTTGAGGGAGGG		

---



**Annex 2.** Tables describing the temperature cycles used in PCRs for multiplexes M1, 2, 3, 4, 5 and 6 of *Saccharina latissima*.

Multiplex	Phase of the cycle	Number of repeats	Denaturation conditions		Annealing conditions		Extension conditions	
			T(°C)	Duration (min:sec)	T(°C)	Duration (min:sec)	T(°C)	Duration (min:sec)
1,2,3	1	1	95	05:00	-	-	-	-
	2	10	95	00:30	65 (- 1°C/cycle)	00:30	72	00:30
	3	30	95	00:30	55	00:30	72	00:30
	4	1	-	-	-	-	72	10:00
4	1	1	95	05:00	-	-	-	-
	2	35	95	00:30	56	00:30	72	00:30
	3	1	-	-	-	-	72	10:00
5	1	1	95	05:00	-	-	-	-
	2	4	95	00:30	58 (- 1°C/cycle)	00:30	72	00:30
	3	30	95	00:30	54	00:30	72	00:30
	4	1	-	-	-	-	72	10:00
6i, 6ii, 6iii	1	1	95	05:00	-	-	-	-
	2	35	95	00:30	55i; 54ii, 58iii	00:30	72	00:30
	3	1	-	-	-	-	72	10:00

**Annex 3.** Differentiation index values ( $F_{ST}$ ) per pair of samples calculated on 22 microsatellite markers and the 308 individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence River and Gulf.

	TAD	IV	LUD	SAM	NOR	PUR	CAD	GRA	NEW
TAD	0,0000								
IV	0,0877	0,0000							
LUD	0,0391	0,0924	0,0000						
SAM	0,0526	0,0876	0,0221	0,0000					
NOR	<b>0,0294</b>	0,0640	0,0412	0,0149	0,0000				
PUR	<b>0,1064</b>	0,1147	0,0850	<b>0,0777</b>	<b>0,0558</b>	0,0000			
CAD	<b>0,0405</b>	0,1140	0,0527	0,0387	0,0257	0,0420	0,0000		
GRA	0,0635	0,0811	0,0421	0,0189	0,0229	0,0416	0,0417	0,0000	
NEW	<b>0,0812</b>	<b>0,0929</b>	0,0941	<b>0,0814</b>	<b>0,0531</b>	<b>0,0231</b>	<b>0,0498</b>	0,0175	0,0000
COL	0,0481	0,0378	0,0684	0,0723	0,0363	<b>0,0568</b>	<b>0,0587</b>	0,0169	0,0308
PAS	<b>0,0637</b>	0,0503	0,0673	<b>0,0728</b>	<b>0,0365</b>	<b>0,0666</b>	<b>0,0796</b>	0,0197	0,0354
BONDC	0,0900	0,0363	0,1088	0,1212	0,0854	0,1409	0,1562	0,0822	0,0910
BON	<b>0,1056</b>	0,0467	0,0921	<b>0,0577</b>	<b>0,0493</b>	<b>0,0842</b>	<b>0,0925</b>	0,0119	<b>0,0428</b>
CASCA	0,1081	0,0968	0,0882	0,0704	<b>0,0461</b>	<b>0,0931</b>	0,1177	0,0405	0,0750
COR	<b>0,0869</b>	0,0392	0,1345	<b>0,1330</b>	<b>0,0964</b>	<b>0,1316</b>	<b>0,1316</b>	0,0925	<b>0,0814</b>
ROO	<b>0,0606</b>	0,0595	0,0761	<b>0,0588</b>	<b>0,0585</b>	<b>0,0706</b>	<b>0,0491</b>	0,0309	<b>0,0386</b>

	COL	PAS	BONDC	BON	CASCA	COR	ROO
COL	0,0000						
PAS	0,0010	0,0000					
BONDC	0,0573	0,0427	0,0000				
BON	0,0380	0,0292	0,0404	0,0000			
CASCA	0,0571	0,0102	0,0944	0,0561	0,0000		
COR	0,0352	<b>0,0522</b>	0,0323	<b>0,0657</b>	<b>0,1306</b>	0,0000	
ROO	0,0189	0,0394	0,0882	<b>0,0335</b>	0,0974	<b>0,0326</b>	0,0000

**Annex 4.** Analyses of molecular variance (AMOVA) using different groups calculated on 22 microsatellite markers and the 308 individuals of *Saccharina latissima* in the St-Lawrence River and Gulf.

AMOVA 1					
Group 1	IV, TAD, SAM, LUD, PUR, NOR				
Group 2	CAD, GRA, NEW, COL, PAS, BON, BON, BONDC, CASCA, ROO, COR				
Group 3	-				
Source of variation	d.f.	Sum of Squares	Variance components	Percentage of variation	p value
Among groups	1	10.669	0.01119	0.42	0.17107
Among populations within groups	14	106.108	0.12798	4.81	0,00000
Among individuals within populations	292	780.320	0.15353	5.78	0,00000
Within individuals	308	728.500	2.36526	88.99	0,00000
Total	615	1625.597	2.65797	100	

AMOVA 2					
Group 1	IV, TAD, SAM, LUD, PUR, NOR				
Group 2	CAD, GRA, NEW, COL, PAS, BON, BON, BONDC, CASCA				
Group 3	ROO, COR				

Source of variation	d.f.	Sum of Squares	Variance components	Percentage of variation	p value
Among groups	2	24.047	0.02350	0.88	0.08211

Among populations within groups	13	92.731	0.11818	4.44	0,00000
Among individuals within populations	292	780.320	0.15353	5.77	0,00000
Within individuals	308	728.500	2.36526	88.90	0,00000
Total	615	1625.597	2.66047	100	

---

AMOVA 3

---

Group 1 IV, TAD, SAM, LUD, PUR, NOR, CAD

Group 2 GRA, NEW, COL, PAS, BON, BON, BONDC, CASCA

Group 3 ROO, COR

---

Source of variation	d.f.	Sum of Squares	Variance components	Percentage of variation	p value
Among groups	2	28.304	0.03587	1.35	0.03128
Among populations within groups	13	88.473	0.10964	4.12	0,00000
Among individuals within populations	292	780.320	0.15353	5.76	0,00000
Within individuals	308	728.500	2.36526	88.78	0,00000
Total	615	1625.597	2.66431	100	

---

AMOVA 4

---

Group 1 IV, TAD, SAM, LUD, PUR, NOR, CAD, GRA

Group 2 NEW, COL, PAS, BON, BON, BONDC, CASCA

Group 3		ROO, COR			
Source of variation	d.f.	Sum of Squares	Variance components	Percentage of variation	p value
Among groups	2	29.648	0.03974	149	0.03030
Among populations within groups	13	87.129	0.10704	4,02	0,00000
Among individuals within populations	292	780.320	0.15353	5.76	0,00000
Within individuals	308	728.500	2.36526	88.73	0,00000
Total	615	1625.597	2.66557	100	

**Annex 5.** Table of all loci amplified, their primer sequences, color, motif, and temperature annealing for *Zostera marina*.

Locus	Primer	Label	Motif	Temperature annealing (°C)
GA1	F : TAGTGGTGGTTGTTGGAGTGC R : GCCTCTTCCTTCAGACTTCCC	HEX	Di	58
GA2	F : GGCAGCGATCTAATAACAATTAAGG R : ACGTCACATCTTTTCACGACC	HEX	Di	55
GA3	F : CGACGATAATCCATTGTTGC R : GCTTTTCATTTATCCAATAGTTTGC	FAM	Di	55
GA4	F : GCGTGGATTCTGGTTTTTCG R : GCATATCCTCTTCTTTTGCCC	HEX	Tetra	55
GA5	F : ACCATTTCCCGTCGTTATC R : TTTGGTGCTAATGAGTTGGG	FAM	Di	59
GA6	F : AGAAACCCTAATGTGATGAAATG R : TGTTGGTTAATTCTCTTCTAATCTT	FAM	Di	55
CT3	F : TGAAGAAATCCCAGAAATCCC R : AGACCCGTAAAGATACCACCG	FAM	Di	58

**Annex 6.** Table describing the temperature cycles used in PCRs for all loci for *Zostera marina*.

Phase of the cycle	Number of repeats	T(°C)	Duration (min:sec)	T(°C)	Duration (min:sec)	T(°C)	Duration (min:sec)
1	1	94	04:00	-	-	-	-
2	30	94	01:00	(Annex 1)	01:30	72	01:30
3	1	-	-	-	-	72	10:00

**Annex 7.** Differentiation index values ( $F_{ST}$ ) per pair of samples calculated on six microsatellite markers and the 214 individuals of *Zostera marina* in the St-Lawrence River and Gulf.

	IV	RIKI	LUD	PLT	SI	BG	SS	CAJ	SH	LTF
IV	0									
RIKI	0,0399	0								
LUD	<b>0,1368</b>	<b>0,1095</b>	0							
PLT	<b>0,0992</b>	<b>0,1065</b>	<b>0,0884</b>	0						
SI	<b>0,1062</b>	<b>0,0753</b>	<b>0,0643</b>	<b>0,0809</b>	0					
BG	<b>0,2456</b>	<b>0,3033</b>	<b>0,3048</b>	<b>0,1846</b>	<b>0,2721</b>	0				
SS	<b>0,1872</b>	<b>0,2371</b>	<b>0,2614</b>	<b>0,1684</b>	<b>0,2409</b>	<b>0,0293</b>	0			
CAJ	<b>0,1133</b>	0,0902	<b>0,1694</b>	<b>0,1440</b>	0,0755	<b>0,3363</b>	<b>0,2918</b>	0		
SH	<b>0,1110</b>	<b>0,1398</b>	<b>0,1879</b>	<b>0,1199</b>	0,0803	<b>0,2914</b>	<b>0,2486</b>	0,0342	0	
LTF	<b>0,0422</b>	<b>0,0610</b>	<b>0,1334</b>	<b>0,0867</b>	<b>0,0750</b>	<b>0,2079</b>	<b>0,1743</b>	<b>0,076</b>	<b>0,0848</b>	0

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alberto, F., Raimondi, P. T., Reed, D. C., Coelho, N. C., Leblois, R., Whitmer, A. et Serrao, E. A. (2010). Habitat continuity and geographic distance predict population genetic differentiation in giant kelp. *Ecology*, 91(1), 49-56.
- Allcock, K. E., Kamel, S. J., Willeboordse, P. L., Long, Z. T. et Jarvis, J. C. (2022). Spatiotemporal variation in patterns of genetic diversity, genetic structure, and life history across *Zostera marina* meadows in North Carolina, USA. *Marine Ecology Progress Series*, 683, 53-66.
- Altieri, A. H. et Witman, J. D. (2006). Local extinction of a foundation species in a hypoxic estuary: integrating individuals to ecosystem. *Ecology*, 87(3), 717-730.
- Archambault, P., Schloss, I. R., Grant, C. et S., Plante, 2017. Les Hydrocarbures dans le Golfe du Saint-Laurent - Enjeux sociaux, économiques et environnementaux. *Notre Golfe*, Rimouski, Qc, Canada, 324 p.
- Auby, I., Bost, C.-A., Budzinski, H., Dalloyau, S., Desternes, A., Belles, A., et Couzi, L. (2011). Régression des herbiers de zostères dans le Bassin d'Arcachon : état des lieux et recherche des causes.
- Augyte, S., Yarish, C., Redmond, S. et Kim, J. K. (2017). Cultivation of a morphologically distinct strain of the sugar kelp, *Saccharina latissima* forma *angustissima*, from coastal Maine, USA, with implications for ecosystem services. *Journal of Applied Phycology*, 29(4), 1967-1976.
- Backman, T. W. (1991). Genotypic and phenotypic variability of *Zostera marina* on the west coast of North America. *Canadian Journal of Botany*, 69(6), 1361-1371.
- Baiser, B., Whitaker, N., et Ellison, A. M. (2013). Modeling foundation species in food webs. *Ecosphere*, 4(12), 1-14.
- Bartsch, I., Wiencke, C., Bischof, K., Buchholz, C. M., Buck, B. H., Eggert, A., et Karez, R. (2008). The genus *Laminaria sensu lato*: recent insights and developments. *European journal of phycology*, 43(1), 1-86.
- Becheler, R., Diekmann, O., Hily, C., Moalic, Y. et Arnaud-Haond, S. (2010). The concept of population in clonal organisms: mosaics of temporally colonized patches are forming

- highly diverse meadows of *Zostera marina* in Brittany. *Molecular ecology*, 19(12), 2394-2407.
- Beck, M. W., Heck, K. L., Able, K. W., Childers, D. L., Eggleston, D. B., Gillanders, B. M., et Minello, T. J. (2001). The identification, conservation, and management of estuarine and marine nurseries for fish and invertebrates: a better understanding of the habitats that serve as nurseries for marine species and the factors that create site-specific variability in nursery quality will improve conservation and management of these areas. *Bioscience*, 51(8), 633-641.
- Bekkby, T. et Moy, F. E. (2011). Developing spatial models of sugar kelp (*Saccharina latissima*) potential distribution under natural conditions and areas of its disappearance in Skagerrak. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 95(4), 477-483.
- Bénard-Déraspe, M.H., Gilmore-Solomon, L., Gendron-Lemieux, I. et Lemoine, M. (2019). Production de laminaires sucrées en mer sur le site maricole de l'entreprise La Moule du Large, Rapport d'activités OPTIMAL 2017-2018. *Mérimov*.
- Benestan, L., Gosselin, T., Perrier, C., Sainte-Marie, B., Rochette, R. et Bernatchez, L. (2015). RAD genotyping reveals fine-scale genetic structuring and provides powerful population assignment in a widely distributed marine species, the American Lobster (*Homarus americanus*). *Molecular ecology*, 24(13), 3299-3315.
- Bernatchez, L. (1997). Mitochondrial DNA analysis confirms the existence of two glacial races of rainbow smelt *Osmerus mordax* and their reproductive isolation in the St Lawrence River estuary (Quebec, Canada). *Molecular Ecology*, 6(1), 73-83.
- Bernier, R., Jamieson, R. et Moore, A. (2018). State of the Atlantic Ocean synthesis report. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 3167.
- Billot, C., Engel, C. R., Rousvoal, S., Kloareg, B. et Valero, M. (2003). Current patterns, habitat discontinuities and population genetic structure: the case of the kelp *Laminaria digitata* in the English Channel. *Marine ecology progress series*, 253, 111-121.
- Blondel, L., Paterson, I. G., Bentzen, P., et Hendry, A. P. (2021). Resistance and resilience of genetic and phenotypic diversity to “black swan” flood events: A retrospective analysis with historical samples of guppies. *Molecular Ecology*, 30(4), 1017-1028.
- Boesch, D. F. et Turner, R. E. (1984). Dependence of fishery species on salt marshes: the role of food and refuge. *Estuaries*, 7(4), 460-468.
- Bolton, J. J. (2010). The biogeography of kelps (*Laminariales*, *Phaeophyceae*): a global analysis with new insights from recent advances in molecular phylogenetics. *Helgoland Marine Research*, 64(4), 263-279.



- Bolton, J. J., Germann, I. et Luning, K. (1983). Hybridization between Atlantic and Pacific representatives of the Simplicies section of *Laminaria* (*Phaeophyta*). *Phycologia*, 22(2), 133-140.
- Borum, J., Duarte, C. M., Greve, T. M. et Krause-Jensen, D. (2004). European seagrasses: an introduction to monitoring and management. *M & MS project*.
- Borum, J., Pedersen, M., Krause-Jensen, D., Christensen, P. et Nielsen, K. (2002). Biomass, photosynthesis and growth of *Laminaria saccharina* in a high-arctic fjord, NE Greenland. *Marine Biology*, 141(1), 11-19.
- Boström, C., Baden, S., Bockelmann, A. C., Dromph, K., Fredriksen, S., Gustafsson, C., et Olesen, B. (2014). Distribution, structure and function of Nordic eelgrass (*Zostera marina*) ecosystems: implications for coastal management and conservation. *Aquatic conservation: marine and freshwater ecosystems*, 24(3), 410-434.
- Breeman, A. M. (1990). Expected effects of changing seawater temperatures on the geographic distribution of seaweed species. Dans Expected effects of climatic change on marine coastal ecosystems (p. 69-76). *Springer*.
- Breton, T. S., Nettleton, J. C., O'Connell, B. et Bertocci, M. (2018). Fine-scale population genetic structure of sugar kelp, *Saccharina latissima* (*Laminariales*, *Phaeophyceae*), in eastern Maine, USA. *Phycologia*, 57(1), 32-40.
- Bringloe, T. T. et Saunders, G. W. (2018). Mitochondrial DNA sequence data reveal the origins of postglacial marine macroalgal flora in the Northwest Atlantic. *Marine Ecology Progress Series*, 589, 45-58.
- Campbell, I., Macleod, A., Sahlmann, C., Neves, L., Funderud, J., Øverland, M., et Stanley, M. (2019). The environmental risks associated with the development of seaweed farming in Europe-prioritizing key knowledge gaps. *Frontiers in Marine Science*, 6, 107.
- Carr, M. H. (1989). Effects of macroalgal assemblages on the recruitment of temperate zone reef fishes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 126(1), 59-76.
- Coleman, M. A., Roughan, M., Macdonald, H. S., Connell, S. D., Gillanders, B. M., Kelaher, B. P. et Steinberg, P. D. (2011). Variation in the strength of continental boundary currents determines continent-wide connectivity in kelp. *Journal of Ecology*, 99(4), 1026-1032.
- Cortial, G., Woodland, R., Lasley-Rasher, R. and Winkler, G. (2019). Phylogeography of *Neomysis americana* (*Crustacea*, *Mysida*), focusing on the St. Lawrence system. *Journal of Plankton Research*, Volume 41, Issue 5.
- Cowen, R.K., G. Gawarkiewicz, J. Pineda, S.R. Thorrold, et F.E. Werner, (2007). Population connectivity in marine systems an overview. *Oceanography*, 20(3): 14-21.

- Dayton, P. (1985). Kelp forest ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 215-245.
- Dayton, P. K. (1975). Experimental evaluation of ecological dominance in a rocky intertidal algal community. *Ecological monographs*, 45(2), 137-159.
- De Cock, A. (1980). Flowering, pollination and fruiting in *Zostera marina* L. *Aquatic Botany*, 9, 201-220.
- Den Hartog, C. (1970). The sea-grasses of the world. *North-Holland, Amsterdam*.
- Den Hartog, C. (1987). "Wasting disease" and other dynamic phenomena in *Zostera* beds. *Aquatic Botany*, 27(1), 3-14.
- Diekmann, O. E. et Serrao, E. A. (2012). Range-edge genetic diversity: locally poor extant southern patches maintain a regionally diverse hotspot in the seagrass *Zostera marina*. *Molecular Ecology*, 21(7), 1647-1657.
- Dorant, Y., Laporte, M., Rougemont, Q., Cayuela, H., Rochette, R., et Bernatchez, L. (2022). Landscape genomics of the American lobster (*Homarus americanus*). *Molecular Ecology*, 31(20), 5182-5200.
- Doyle, J. J. et Doyle, J. L. (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19(1):11-15,
- Duarte, C. M. et Chiscano, C. L. (1999). Seagrass biomass and production: a reassessment. *Aquatic botany*, 65(1-4), 159-174.
- Duffy, J. E., Stachowicz, J. J., Reynolds, P. L., Hovel, K. A., Jahnke, M., Sotka, E. E., et Olsen, J. L. (2022). A Pleistocene legacy structures variation in modern seagrass ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(32).
- Durrant, H. M., Barrett, N. S., Edgar, G. J., Coleman, M. A. et Burridge, C. P. (2018). Seascape habitat patchiness and hydrodynamics explain genetic structuring of kelp populations. *Marine Ecology Progress Series*, 587, 81-92.
- Earl, D. A. (2012). STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation genetics resources*, 4(2), 359-361.
- Efird, T. P. et Konar, B. (2014). Habitat characteristics can influence fish assemblages in high latitude kelp forests. *Environmental biology of fishes*, 97(11), 1253-1263.
- Ehlers, A., Worm, B. et Reusch, T. B. (2008). Importance of genetic diversity in eelgrass *Zostera marina* for its resilience to global warming. *Marine Ecology Progress Series*, 355, 1-7.

- Ellison, A. M. (2019). Foundation species, non-trophic interactions, and the value of being common. *Isience*, 13, 254-268.
- Ellison, A. M., Bank, M. S., Clinton, B. D., Colburn, E. A., Elliott, K., Ford, C. R., et Lovett, G. M. (2005). Loss of foundation species: consequences for the structure and dynamics of forested ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 3(9), 479-486.
- Ewanchuk, P. J. et Williams, S. L. (1996). Survival and re-establishment of vegetative fragments of eelgrass (*Zostera marina*). *Canadian Journal of Botany*, 74(10), 1584-1590.
- Excoffier, L. et Lischer, H. E. (2010). Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*, 10(3), 564-567.
- Falkenberg, L. J., Russell, B. D. et Connell, S. D. (2012). Stability of strong species interactions resist the synergistic effects of local and global pollution in kelp forests. *PloS one*, 7(3), e33841.
- Feehan, C. J., Grace, S. P. et Narvaez, C. A. (2019). Ecological feedbacks stabilize a turf-dominated ecosystem at the southern extent of kelp forests in the Northwest Atlantic. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
- Filbee-Dexter, K., Feehan, C. J. et Scheibling, R. E. (2016). Large-scale degradation of a kelp ecosystem in an ocean warming hotspot. *Marine Ecology Progress Series*, 543, 141-152.
- Fonseca, M. S. et Uhrin, A. V. (2009). The status of eelgrass, *Zostera marina*, as bay scallop habitat: consequences for the fishery in the Western Atlantic. *Marine Fisheries Review*, 71(3), 20.
- Forbord, S., Skjermo, J., Arff, J., Handå, A., Reitan, K. I., Bjerregaard, R. et Lüning, K. (2012). Development of *Saccharina latissima* (*Phaeophyceae*) kelp hatcheries with year-round production of zoospores and juvenile sporophytes on culture ropes for kelp aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 24(3), 393-399.
- Fortes, M. D. (1988). Mangrove and seagrass beds of East Asia: habitats under stress. *Ambio*, 207-213.
- Frankham, R. (2005). Genetics and extinction. *Biological conservation*, 126(2), 131-140.
- Frankham, R., Ballou, S. E. J. D., Briscoe, D. A. et Ballou, J. D. (2002). Introduction to conservation genetics. *Cambridge university press*.
- Gaines, S. D. et Roughgarden, J. (1987). Fish in offshore kelp forests affect recruitment to intertidal barnacle populations. *Science*, 235(4787), 479-481.

- Garbary, D. J., Miller, A. G., Seymour, N. et Williams, J. (2004). Destruction of eelgrass beds in Nova Scotia by the invasive green crab. *Status and conservation of eelgrass*, 13-14.
- Garbary, D. J., Miller, A. G., Williams, J. et Seymour, N. R. (2014). Drastic decline of an extensive eelgrass bed in Nova Scotia due to the activity of the invasive green crab (*Carcinus maenas*). *Marine biology*, 161(1), 3-15.
- Gendron, L., Gauthier, P. et Savard, G. (2007). Expériences préliminaires de culture de l'algue brune *Laminaria longicruris* en laboratoire et en mer au large de Paspébiac (Québec) en 2006. *Direction régionale des sciences, pêches et océans Canada, Institut Maurice-Lamontagne*.
- Gendron, L. et Tamigneaux, É. (2008). Expériences de culture de l'algue brune *Saccharina longicruris* en 2007 : essais en bassin et en mer au large de Paspébiac et de Grande-Rivière (Québec). *Direction régionale des Sciences, Pêches et Océans Canada, Institut Maurice-Lamontagne*.
- Gendron, L., Tamigneaux, É., Leroux, C. et Leblanc, M.-J. (2010). Ajustements du calendrier de culture de la laminaire à long stipe (*Saccharina longicruris*) en Gaspésie (Québec) pour éviter la colonisation des frondes par le bryozoaire *Membranipora membranacea* et augmenter le nombre de récoltes annuelles. *Rapport canadien à l'industrie sur les sciences halieutiques et aquatiques*, 284.
- Glowka, L., Burhenne-Guilmin, F., Synge, H., McNeely, J. A. et Gündling, L. (1996). Guide de la Convention sur la diversité biologique. *International Union for Conservation of Nature*, 30.
- Goecke, F., Klemetsdal, G. et Ergon, Å. (2020). Cultivar development of kelps for commercial cultivation - Past lessons and future prospects. *Frontiers in Marine Science*, 7, 110.
- Goudet, J. (2005). FSTAT (version 2.9. 4): a program to estimate and test population genetics parameters.
- Green, E. P. et Short, F. T. (2003). World atlas of seagrasses. *University of California Press*.
- Gruber, B., Unmack, P. J., Berry, O. F. et Georges, A. (2018). dartr: An r package to facilitate analysis of SNP data generated from reduced representation genome sequencing. *Molecular Ecology Resources*, 18(3), 691-699.
- Guzinski, J., Mauger, S., Cock, J. M. et Valero, M. (2016). Characterization of newly developed expressed sequence tag-derived microsatellite markers revealed low genetic diversity within and low connectivity between European *Saccharina latissima* populations. *Journal of applied phycology*, 28(5), 3057-3070.

- Guzinski, J., Ruggeri, P., Ballenghien, M., Mauger, S., Jacquemin, B., Jollivet, C., et Valero, M. (2020). Seascape Genomics of the Sugar Kelp *Saccharina latissimi* along the North Eastern Atlantic Latitudinal Gradient. *Genes*, 11(12), 1503.
- Hammer, K. J., Borum, J., Hasler-Sheetal, H., Shields, E. C., Sand-Jensen, K. et Moore, K. A. (2018). High temperatures cause reduced growth, plant death and metabolic changes in eelgrass *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series*, 604, 121-132.
- Hanelt, D. (1998). Capability of dynamic photoinhibition in Arctic macroalgae is related to their depth distribution. *Marine Biology*, 131(2), 361-369.
- Hellberg, M.E., (2009). Gene flow and isolation among populations of marine animals. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40: 291-310.
- Hemminga, M. A. et Duarte, C. M. (2000). Seagrass ecology. *Cambridge University Press*.
- Hewitt, G. M. (1996). Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. *Biological journal of the Linnean Society*, 58(3), 247-276.
- Hey, J. et Machado, C. A. (2003). The study of structured populations - new hope for a difficult and divided science. *Nature Reviews Genetics*, 4(7), 535-543.
- Hughes, A. R. et Stachowicz, J. J. (2004). Genetic diversity enhances the resistance of a seagrass ecosystem to disturbance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(24), 8998-9002.
- Hwang, E. K., Yotsukura, N., Pang, S. J., Su, L. et Shan, T. F. (2019). Seaweed breeding programs and progress in eastern Asian countries. *Phycologia*, 58(5), 484-495.
- Jackson, E. L., Rowden, A. A., Attrill, M. J., Bossey, S. J. et Jones, M. B. (2001). The importance of seagrass beds as a habitat for fishery species. *Oceanography and marine biology*, 39, 269-304.
- Jahan, A., Ahmad, I. Z., Fatima, N., Ansari, V. A. et Akhtar, J. (2017). Algal bioactive compounds in the cosmeceutical industry: a review. *Phycologia*, 56(4), 410-422.
- Jahnke, M., Jonsson, P. R., Moksnes, P. O., Loo, L. O., Nilsson Jacobi, M. et Olsen, J. L. (2018). Seascape genetics and biophysical connectivity modelling support conservation of the seagrass *Zostera marina* in the Skagerrak–Kattegat region of the eastern North Sea. *Evolutionary applications*, 11(5), 645-661.
- Jombart, T. et Collins, C. (2015). A tutorial for discriminant analysis of principal components (DAPC) using adegenet 2.0. 0. *London: Imperial College London, MRC Centre for Outbreak Analysis and Modelling*.

- Joshi, J., Schmid, B., Caldeira, M., Dimitrakopoulos, P., Good, J., Harris, R., et Minns, A. (2001). Local adaptation enhances performance of common plant species. *Ecology Letters*, 4(6), 536-544.
- Kamel, S. J., Hughes, A. R., Grosberg, R. K. et Stachowicz, J. J. (2012). Fine-scale genetic structure and relatedness in the eelgrass *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series*, 447, 127-137.
- Kennington, E. L., Harding, G. C., Jones, M. W. et Prodoehl, P. A. (2009). Pleistocene glaciation events shape genetic structure across the range of the American lobster, *Homarus americanus*. *Molecular Ecology*, 18(8), 1654-1667.
- Kiessling, W., et Simpson, C. (2011). On the potential for ocean acidification to be a general cause of ancient reef crises. *Global Change Biology*, 17(1), 56-67.
- Kim, J., Stekoll, M. et Yarish, C. (2019). Opportunities, challenges and future directions of open-water seaweed aquaculture in the United States. *Phycologia*, 58(5), 446-461.
- Koch, E. et Beer, S. (1996). Tides, light and the distribution of *Zostera marina* in Long Island Sound, USA. *Aquatic botany*, 53(1-2), 97-107.
- Koch, E. W., Barbier, E. B., Silliman, B. R., Reed, D. J., Perillo, G. M., Hacker, S. D., et Polasky, S. (2009). Non-linearity in ecosystem services: temporal and spatial variability in coastal protection. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 7(1), 29-37.
- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A. et Mayrose, I. (2015). Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular ecology resources*, 15(5), 1179-1191.
- Krumhansl, K. A., Okamoto, D. K., Rassweiler, A., Novak, M., Bolton, J. J., Cavanaugh, K. C., et Ling, S. D. (2016). Global patterns of kelp forest change over the past half-century. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(48), 13785-13790.
- Kuhnlein, H. V. et Turner, N. J. (2020). Traditional plant foods of Canadian indigenous peoples: nutrition, botany and use. *Routledge*.
- Lake, P. S. (2013). Resistance, resilience and restoration. *Ecological management & restoration*, 14(1), 20-24.
- Lane, C. E. et Saunders, G. W. (2005). Molecular investigation reveals epi/endophytic extragenetic kelp (*Laminariales*, *Phaeophyceae*) gametophytes colonizing *Lessoniopsis littoralis* thalli.
- Lazzari, M., Sherman, S. et Kanwit, J. (2003). Nursery use of shallow habitats by epibenthic fishes in Maine nearshore waters. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 56(1), 73-84.

- Lee, R. (1973). General ecology of the Canadian Arctic benthic marine algae. *Arctic*, 32-43.
- Lenfant, P. (2002). Hétérozygotie et valeur sélective : le cas du poisson marin, *Diplodus sargus* (Linné, 1758). *Comptes Rendus Biologies*, 325(3), 239-252.
- Logan, J. A., Régnière, J. et Powell, J. A. (2003). Assessing the impacts of global warming on forest pest dynamics. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1(3), 130-137.
- Lowry, D. B. (2012). Local adaptation in the model plant. *New Phytologist*, 194(4), 888-890.
- Luttikhuisen, P. C., van den Heuvel, F. H. M., Rebours, C., Witte, H. J., van Bleijswijk, J. D. L. and Timmermans, K. (2018). Strong Population Structure But No Equilibrium Yet: Genetic Connectivity and Phylogeography in the Kelp *Saccharina Latissima* (Laminariales, Phaeophyta). *Ecology Evolution*. 8, 4265–4277.
- Maggs, C. A., Castilho, R., Foltz, D., Henzler, C., Jolly, M. T., Kelly, J., et Väinölä, R. (2008). Evaluating signatures of glacial refugia for North Atlantic benthic marine taxa. *Ecology*, 89(sp11), S108-S122.
- Manni, F., Guérard, E. et Heyer, E. (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using Monmonier's algorithm. *Human biology*, 173-190.
- Mao, X., Augyte, S., Huang, M., Hare, M. P., Bailey, D., Umanson, S., et Lindell, S. (2020). Population genetics of sugar kelp throughout the Northeastern United States using genome-wide markers. *Frontiers in Marine Science*, 7, 694.
- Marinho, G. S., Holdt, S. L., Birkeland, M. J. et Angelidaki, I. (2015). Commercial cultivation and bioremediation potential of sugar kelp, *Saccharina latissima*, in Danish waters. *Journal of applied phycology*, 27(5), 1963-1973.
- Marsot, P. et Fournier, R. (1992). Faisabilité biologique de la reproduction de *Laminaria longicruris* et de la croissance des jeunes sporophytes en laboratoire. Projet d'étude de faisabilité technique et économique de la culture d'algues alimentaires aux Îles-de-la-Madeleine. *Programme d'essai et d'expérimentation halieutique et aquicole. Rapport final*, (429).
- Martel, M.-C., Provencher, L., Grant, C., Ellefsen, H.-F. et Pereira, S. (2009). Distribution et description des herbiers de zostère du Québec Secrétariat canadien de consultation scientifique. *Canadian Science Advisory Secretariat*.
- Martínez-Lüscher, J. et Holmer, M. (2010). Potential effects of the invasive species *Gracilaria vermiculophylla* on *Zostera marina* metabolism and survival. *Marine Environmental Research*, 69(5), 345-349.

- Mauger, S., Couceiro, L. et Valero, M. (2012). A simple and cost-effective method to synthesize an internal size standard amenable to use with a 5-dye system. *Prime Research on Biotechnology*, 2(3), 40-46.
- McDevit, D. C. et Saunders, G. W. (2010). A DNA barcode examination of the *Laminariaceae* (*Phaeophyceae*) in Canada reveals novel biogeographical and evolutionary insights. *Phycologia*, 49(3), 235-248.
- McNeely, J. A., Miller, K. R., Reid, W. V., Mittermeier, R. A. et Werner, T. B. (1990). Strategies for conserving biodiversity. *Environment: Science and Policy for Sustainable Development*, 32(3), 16-40.
- Meinesz, A. et Hesse, B. (1991). Introduction of the tropical alga *Caulerpa taxifolia* and its invasion of the northwestern Mediterranean. *Oceanologica acta. Paris*, 14(4), 415-426.
- Meirmans, P. G. et Van Tienderen, P. H. (2004). GENOTYPE and GENODIVE: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. *Molecular ecology notes*, 4(4), 792-794.
- Miller, A. D., Coleman, M. A., Clark, J., Cook, R., Naga, Z., Doblin, M. A., Hoffmann, A. A., Sherman, C. D. H. et Bellgrove, A., (2019). Local thermal adaptation and limited gene flow constrain future climate responses of a marine ecosystem engineer. *Evolutionary Applications*, 13(5), 918-934.
- Møller Nielsen, M., Paulino, C., Neiva, J., Krause-Jensen, D., Bruhn, A. et Serrão, E. A. (2016). Genetic diversity of *Saccharina latissima* (*Phaeophyceae*) along a salinity gradient in the North Sea–Baltic Sea transition zone. *Journal of phycology*, 52(4), 523-531.
- Moran, E. V., Hartig, F. et Bell, D. M. (2016). Intraspecific trait variation across scales: implications for understanding global change responses. *Global Change Biology*, 22(1), 137-150.
- MPO. (2006). Identification des espèces et des attributs des communautés d'importance écologique. *Secrétariat canadien de consultation scientifique du MPO. Avis scientifique*, 2006/041.
- MPO. (2009). La zostère (*Zostera marina*) remplit-elle les critères d'espèce d'importance écologique? *Secrétariat canadien de consultation scientifique du MPO. Avis scientifique*, 2009/018.
- Muehlstein, L. (1989). Perspectives on the wasting disease of eelgrass *Zostera marina*. *Diseases of aquatic organisms*, 7(3), 211-221.
- Muehlstein, L. K., Porter, D. et Short, F. T. (1991). *Labyrinthula zosterae* sp. nov., the causative agent of wasting disease of eelgrass, *Zostera marina*. *Mycologia*, 83(2), 180-191.



- Muniz-Salazar, R., Talbot, S. L., Sage, G. K., Ward, D. H. et Cabello-Pasini, A. (2005). Population genetic structure of annual and perennial populations of *Zostera marina* L. along the Pacific coast of Baja California and the Gulf of California. *Molecular ecology*, 14(3), 711-722.
- Murphy, G. E., Dunic, J. C., Adamczyk, E. M., Bittick, S. J., Côté, I. M., Cristiani, J., et Wong, M. C. (2021). From coast to coast to coast: ecology and management of seagrass ecosystems across Canada. *Facets*, 6(1), 139-179.
- Neiva, J., Paulino, C., Nielsen, M. M., Krause-Jensen, D., Saunders, G. W., Assis, J., et Aires, T. (2018). Glacial vicariance drives phylogeographic diversification in the amphi-boreal kelp *Saccharina latissima*. *Scientific reports*, 8(1), 1-12.
- Neiva, J., Serrão, E. A., Paulino, C., Gouveia, L., Want, A., Tamigneaux, É., et Engel-Gautier, C. (2020). Genetic structure of amphi-Atlantic *Laminaria digitata* (*Laminariales*, *Phaeophyceae*) reveals a unique range-edge gene pool and suggests post-glacial colonization of the NW Atlantic. *European Journal of Phycology*, 55(4), 517-528.
- Nejrup, L. B. et Pedersen, M. F. (2008). Effects of salinity and water temperature on the ecological performance of *Zostera marina*. *Aquatic Botany*, 88(3), 239-246.
- Nepper-Davidsen, J., Andersen, D. T. et Pedersen, M. F. (2019). Exposure to simulated heatwave scenarios causes long-term reductions in performance in *Saccharina latissima*. *Marine Ecology Progress Series*, 630, 25-39.
- Nixon, S. W. (1995). Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia*, 41(1), 199-219.
- Norderhaug, K., Christie, H., Fosså, J. et Fredriksen, S. (2005). Fish-macrofauna interactions in a kelp (*Laminaria hyperborea*) forest. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85(5), 1279.
- Olsen, J. L., Stam, W. T., Coyer, J. A., Reusch, T. B., Billingham, M., Boström, C., et Lumiere, R. L. (2004). North Atlantic phylogeography and large-scale population differentiation of the seagrass *Zostera marina* L. *Molecular ecology*, 13(7), 1923-1941.
- Ort, B. S., Cohen, C. S., Boyer, K. E. et Wyllie-Echeverria, S. (2012). Population structure and genetic diversity among eelgrass (*Zostera marina*) beds and depths in San Francisco Bay. *Journal of Heredity*, 103(4), 533-546.
- Orth, R. J., Carruthers, T. J., Dennison, W. C., Duarte, C. M., Fourqurean, J. W., Heck, K. L., et Olyarnik, S. (2006). A global crisis for seagrass ecosystems. *Bioscience*, 56(12), 987-996.

- Orth, R. J., Harwell, M. C. et Inglis, G. J. (2007). Ecology of seagrass seeds and seagrass dispersal processes. *Dans Seagrasses: Biology, Ecology and Conservation* (p. 111-133). Springer.
- Pandolfi, J. M., Connolly, S. R., Marshall, D. J. et Cohen, A. L. (2011). Projecting coral reef futures under global warming and ocean acidification. *Science*, 333(6041), 418-422.
- Phillips, R. C., Grant, W. S. et McRoy, C. P. (1983). Reproductive strategies of eelgrass (*Zostera marina* L.). *Aquatic Botany*, 16(1), 1-20.
- Plan d'action Saint-Laurent. (2022). Le Saint-Laurent. Récupéré de <https://www.planstlaurent.qc.ca/fleuve-saint-laurent>
- Poiner, I. (1989). Regional studies-seagrasses of tropical Australia. *Biology of Seagrasses, A Treatise on the Biology of Sea-grasses with Special Reference to the Australian Region*.
- Pothier, J., Bachand, E. et Joubert, J.-E. (2014). Restauration de l'herbier de zostère marine (*Zostera marina* L.) dans la baie de Mitis, Grand-Métis. *Comité ZIP du Sud-de-l'Estuaire*.
- Primack, R. B. (2006). Essentials of conservation biology (vol. 23) *Sinauer Associates Sunderland*.
- Pritchard, J. K., Stephens, M. et Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2), 945-959.
- Radulovici, A. E. (2012). A tale of two biodiversity levels inferred from DNA barcoding.
- Rasmussen, E. (1977). The wasting disease of eelgrass (*Zostera marina*) and its effects on environmental factors and fauna. *Seagrass ecosystems*, 1-51.
- Reed, D. C., Amsler, C. D. et Ebeling, A. W. (1992). Dispersal in kelps: factors affecting spore swimming and competency. *Ecology*, 73(5), 1577-1585.
- Reusch, T., Stam, W. et Olsen, J. (2000). A microsatellite-based estimation of clonal diversity and population subdivision in *Zostera marina*, a marine flowering plant. *Molecular Ecology*, 9(2), 127-140.
- Reusch, T. B., Ehlers, A., Hämmerli, A. et Worm, B. (2005). Ecosystem recovery after climatic extremes enhanced by genotypic diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(8), 2826-2831.
- Rhode, J. M. et Duffy, J. E. (2004). Relationships between bed age, bed size, and genetic structure in Chesapeake Bay (Virginia, USA) eelgrass (*Zostera marina* L.). *Conservation Genetics*, 5(5), 661-671.

- Rousset, F. (2008). genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular ecology resources*, 8(1), 103-106.
- RStudio, T. (2015). RStudio: integrated development for R. RStudio. Inc., *Boston, MA*.
- Savenkoff, C., Vézina, À. et Gratton, Y., 1996. Les courants dans l'estuaire maritime du Saint-Laurent : Un casse-tête pour les biologistes?. *Le Naturaliste canadien*, 121(1) p74-76
- Setchell, W. A. (1929). Morphological and phenological notes on *Zostera marina* L. *University of California Publications in Botany.*, 14, 389-452.
- Short, F. T., Ibelings, B. W. et Den Hartog, C. (1988). Comparison of a current eelgrass disease to the wasting disease in the 1930s. *Aquatic Botany*, 30(4), 295-304.
- Short, F. T., Mathieson, A. C. et Nelson, J. (1986). Recurrence of the eelgrass wasting disease at the border of New Hampshire and Maine, USA. *Marine Ecology Progress Series*, 89-92.
- Short, F. T. et Wyllie-Echeverria, S. (1996). Natural and human-induced disturbance of seagrasses. *Environmental conservation*, 23(1), 17-27.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236(4803), 787-792.
- Slattery, M. et Lesser, M. P. (2021). Gorgonians are foundation species on sponge-dominated Mesophotic Coral Reefs in the Caribbean. *Frontiers in marine science*, 8, 304.
- Smale, D. A. (2020). Impacts of ocean warming on kelp forest ecosystems. *New Phytologist*, 225(4), 1447-1454.
- Smale, D. A., Burrows, M. T., Moore, P., O'Connor, N. et Hawkins, S. J. (2013). Threats and knowledge gaps for ecosystem services provided by kelp forests: a northeast Atlantic perspective. *Ecology and evolution*, 3(11), 4016-4038.
- Soares, M. L. G., Estrada, G. C. D., Fernandez, V. et Tognella, M. M. P. (2012). Southern limit of the Western South Atlantic mangroves: Assessment of the potential effects of global warming from a biogeographical perspective. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 101, 44-53.
- St. Lawrence Center. (1991). A river, estuaries, and a gulf, broad hydrographic divisions of the St. Lawrence. *The Environmental Atlas of the St. Lawrence Dans M. Environment Canada, Quebec. (dir.)*.
- Stachowicz, J. J. (2001). Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities: positive interactions play a critical, but underappreciated, role in ecological communities

- by reducing physical or biotic stresses in existing habitats and by creating new habitats on which many species depend. *Bioscience*, 51(3), 235-246.
- Stanley, R. R., DiBacco, C., Lowen, B., Beiko, R. G., Jeffery, N. W., Van Wyngaarden, M., et Bradbury, I. R. (2018). A climate-associated multispecies cryptic cline in the northwest Atlantic. *Science Advances*, 4(3), eaaq0929.
- Tamigneaux, É. et Johnson, L. (2016). Les macroalgues du Saint-Laurent: une composante essentielle d'un écosystème marin unique et une ressource naturelle précieuse dans un contexte de changement global. *Le Naturaliste canadien*, 140(2), 62-73.
- Tamigneaux, É., Leblanc, M. et Larrivée, M. (2009). Amélioration des techniques de culture des algues marines: test de faisabilité de trois récoltes annuelles pour la laminaire à long stipe (*Saccharina longicuris*). Programme d'aide à la recherche technologique. *Rapport final du projet PART2007N004 au ministère de l'Éducation et de l'Enseignement supérieur. Cégep de la Gaspésie et des Îles, Centre collégial de transfert de technologie des pêches, Grande-Rivière*, vii.
- Tamigneaux, É., Leblanc, M. et Larrivée, M. (2011). Amélioration des techniques de culture des algues marines: comparaison entre les rendements de *Saccharina longicuris* et d'*Alaria esculenta*. Programme d'aide à la recherche technologique. Rapport final du projet PART2009A019 au ministère de l'Éducation et de l'Enseignement supérieur. *Cégep de la Gaspésie et des Îles, Centre collégial de transfert de technologie des pêches, Grande-Rivière*, vi.
- Tamigneaux, E., Licois, A., Bourdages, D. et Leblanc, M. (2013). Protocoles pour la culture de la laminaire à long stipe (*Saccharina longicuris*) et de la laminaire sucrée (*Saccharina latissima*) dans le contexte du Québec, vol Guide No. 13-01
- Tanaka, N., Demise, T., Ishii, M., Shoji, Y. et Nakaoka, M. (2011). Genetic structure and gene flow of eelgrass *Zostera marina* populations in Tokyo Bay, Japan: implications for their restoration. *Marine Biology*, 158(4), 871-882.
- Taylor, W. R. (1957). Marine algae of the northeastern coast of North America. *University of Michigan Press*.
- Trebilco, R., Dulvy, N. K., Stewart, H. et Salomon, A. K. (2015). The role of habitat complexity in shaping the size structure of a temperate reef fish community. *Marine Ecology Progress Series*, 532, 197-211.
- Valadon, A. (2009). Effets des interventions sylvicoles sur la diversité génétique des arbres forestiers. *Analyse bibliographique, Les dossiers forestiers*, (21).

- Valero, M., Destombe, C., Mauger, S., Ribout, C., Engel, C. R., Daguin-Thiébaud, C. et Tellier, F. (2011). Using genetic tools for sustainable management of kelps: a literature review and the example of *Laminaria digitata*. *CBM-Cahiers de Biologie Marine*, 52(4), 467.
- Van Oosterhout, C., Hutchinson, W. F., Wills, D. P. et Shipley, P. (2004). MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, 4(3), 535-538.
- Vergeer, L. et Den Hartog, C. (1994). Omnipresence of *Labyrinthulaceae* in seagrasses. *Aquatic Botany*, 48(1), 1-20.
- Visch, W., Rad-Menéndez, C., Nylund, G. M., Pavia, H., Ryan, M. J. et Day, J. (2019). Underpinning the development of seaweed biotechnology: cryopreservation of brown algae (*Saccharina latissima*) gametophytes. *Biopreservation and biobanking*, 17(5), 378-386.
- Waples, R. S. et Gaggiotti, O. (2006). INVITED REVIEW: What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular ecology*, 15(6), 1419-1439.
- Witman, J. D. et Lamb, R. W. (2018). Persistent differences between coastal and offshore kelp forest communities in a warming Gulf of Maine. *PLoS one*, 13(1), e0189388.
- Wright, S. (1943). Isolation by distance. *Genetics*, 28(2), 114.
- Wyllie-Echeverria, S., Talbot, S. L. et Rearick, J. R. (2010). Genetic structure and diversity of *Zostera marina* (eelgrass) in the San Juan Archipelago, Washington, USA. *Estuaries and Coasts*, 33(4), 811-827.
- Young, A., Torres, C., Mack, J. et Cunningham, C. (2002). Morphological and genetic evidence for vicariance and refugium in Atlantic and Gulf of Mexico populations of the hermit crab *Pagurus longicarpus*. *Marine Biology*, 140(5), 1059-1066.
- Zhang, J., Wang, X., Yao, J., Li, Q., Liu, F., Yotsukura, N., et Duan, D. (2017). Effect of domestication on the genetic diversity and structure of *Saccharina japonica* populations in China. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.
- Zimmerman, R. C., Kohrs, D. G. et Alberte, R. S. (1996). Top-down impact through a bottom-up mechanism: the effect of limpet grazing on growth, productivity and carbon allocation of *Zostera marina* L. (eelgrass). *Oecologia*, 107(4), 560-567.





