



Variations ontogéniques et spatio-temporelles des écophases larvaires des poissons : évaluation de la condition nutritionnelle et détermination des périodes critiques

Julien Di Pane

► To cite this version:

Julien Di Pane. Variations ontogéniques et spatio-temporelles des écophases larvaires des poissons : évaluation de la condition nutritionnelle et détermination des périodes critiques. Biologie animale. Université du Littoral Côte d'Opale, 2019. Français. NNT : 2019DUNK0540 . tel-02480814

HAL Id: tel-02480814

<https://theses.hal.science/tel-02480814>

Submitted on 17 Feb 2020

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

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

Thèse de doctorat de
L'Université du Littoral Côte d'Opale

**Ecole doctorale – Sciences de la Matière, du Rayonnement et de
l'Environnement**

Pour obtenir le grade de
Docteur en sciences et technologies
Spécialité : Géosciences, Écologie, Paléontologie, Océanographie

**Variations ontogéniques et spatio-temporelles des écophases
larvaires des poissons: évaluation de la condition nutritionnelle
et détermination des périodes critiques**

Présentée et soutenue par
Julien Di Pane

Le 21 novembre 2019 devant le jury composé de :

José Zambonino - Infante
HDR – IFREMER Brest

Rapporteur

Sandrine Vaz
HDR – IFREMER Sète

Rapporteur

Eric Thiebaut
Professeur – Sorbonne Université

Examineur (président)

Marie Pierre Halm-Lemeille
HDR – IFREMER Port en Bessin

Examineur

Paul Marchal
HDR – IFREMER Boulogne sur Mer

Directeur de thèse

Philippe Koubbi
Professeur – Sorbonne Université

Co-directeur de thèse

Christophe Loots
Cadre de recherche – IFREMER Boulogne sur Mer

Responsable scientifique

Carolina Giraldo
Cadre de recherche – IFREMER Boulogne sur Mer

Membre invité

Résumé

En tant que facteur de déterminisme du recrutement, l'étude du succès de survie des larves de poissons a depuis les travaux de Hjort (1914) prit une importance cruciale pour la compréhension des variations de la dynamique des populations. La nutrition et les conséquences du jeûne des larves sont désormais largement acceptées comme des sources majeures de variabilité dans la survie, expliquant que le nombre de descendant recrutant la population adulte est non proportionnel à la biomasse des reproducteurs. C'est dans ce contexte que s'est inscrit cette thèse avec pour but d'identifier *in situ* les périodes critiques (i.e stades à forte mortalité) du développement larvaire, et définir les conditions environnementales qui leurs sont favorables à l'aide d'indices de condition biochimique et histologique. Par la réalisation de plusieurs campagnes hivernales et printanières, réalisées principalement en Manche orientale et mer du Nord, des données de distributions, d'abondances et de conditions larvaires ont pu être acquises. Une plus faible abondance larvaire a été mise en évidence en 2017 comparé aux années 1990, notamment pour les espèces ayant déjà montré une forte baisse de leur stock depuis le réchauffement des eaux survenu à la fin des années 1990. Cette baisse d'abondance pourrait être en lien avec une diminution des zones favorables à une bonne condition, notamment pour la sole. Les indices histologiques étant définis expérimentalement, ces indices ont été calibrés au moyen d'outils statistiques et d'une revue de la littérature, de manière à obtenir une méthode plus adaptée aux larves récoltées *in situ*. Cette nouvelle approche a été couplée à un indice de croissance afin de définir pour trois espèces clé de manche (sole, sprat et merlan) les zones, périodes et conditions environnementales favorables à une bonne condition et croissance larvaire durant la période critique de première alimentation. Enfin, ces indices ont été couplés à un indice lipidique afin de définir les variations de condition et de stratégie d'allocation de l'énergie des larves de plie au cours de l'ontogénie, montrant un changement d'une stratégie de croissance à une de création de réserves énergétiques à l'entrée à la métamorphose (transition entre phase larvaire et juvénile). Ces résultats suggèrent plusieurs périodes critiques potentielles durant le développement et que, selon les espèces, les paramètres environnementaux augmentant la probabilité de survie sont variables. Ces résultats de condition devraient être considérés dans les modèles écosystémiques afin de mieux comprendre les facteurs de variation du recrutement des poissons.

Mots clefs : Ichtyoplancton, Manche est, Condition, Assemblages, Variations temporelles.

Abstract

As a deterministic factor in recruitment, the study of the survival success of fish larvae has since the work of Hjort (1914) become crucial to understanding variations in population dynamics. Nutrition and the consequences of larval starvation are now widely accepted as major sources of variability in survival, explaining that the number of offspring recruiting the adult population is not proportional to the spawning biomass. It is in this context that this thesis was written with the aim of identifying *in situ* the critical periods (i.e. high mortality stages) of the larval development, and defining the environmental conditions that are favourable to them using biochemical and histological condition indices. By carrying out several winter and spring surveys, mainly in the Eastern English Channel and North Sea, data on distributions, abundances and larval conditions have been acquired. A lower larval abundance has been highlighted compared to the 90s, particularly for species that have already shown a decline in their stock since the warming of the waters in the late 90s. This decrease in abundance could be linked to a decrease in areas favourable to good condition, particularly for sole. As the histological indices were defined experimentally, these indices were calibrated using literature and statistical tools in order to obtain a method more adapted to the larvae collected *in situ*. This new approach was coupled with a growth index to define for three key species (sole, sprat and whiting) the zones, periods and environmental conditions favourable to good larval condition and growth during the critical first feeding period. Finally, these indices were coupled with a lipid index to define variations in the condition and energy allocation strategy of plaice larvae during ontogeny, showing a change from a growth strategy to one of creating energy reserves at the entrance to metamorphosis (transition from larval to juvenile phase). These results suggest several potential critical periods during development and, depending on the species, the environmental parameters increasing the probability of survival are variable. These condition results should be considered in ecosystem models to better understand the factors of variation in fish recruitment.

Key words: Ichthyoplankton, Eastern English Channel, Condition, Assemblages, Temporal variations.

Remerciements

Cette thèse a été effectuée grâce aux financements de l'IFREMER et du Pôle Métropolitain de la Côte d'Opale (PMCO), que je remercie. Merci à EDF dans le cadre du projet IGA pour leur soutien financier. Ce travail a été en partie financé par l'Europe (FEDER), l'état et la région Hauts-de-France, dans le cadre du CPER MARCO 2015-2020. Enfin, merci à la SFR-Campus de la Mer pour avoir pris en charge les frais de publication du chapitre 5.

<>< <>< <>< <>< <>< <><

Trois ans. A ce qu'il paraît cela correspondrait au temps que dure l'amour. Il est clair que mon amour pour les sciences et la biologie dure depuis bien plus longtemps que ça et ce n'est certainement pas ces trois dernières années qui m'ont écarté de la conviction que j'ai de vouloir en faire ma carrière. C'est d'ailleurs cet amour-là qui m'a fait quitter mon Sud natal pour venir affronter la rudesse climatique du Nord de la France. Au milieu de cette grisaille, j'ai pu y rencontrer une poignée d'âmes, des éclaircies qui m'ont permis d'avancer tant bien que mal dans la belle tempête que représente une thèse. Ce chapitre très justement intitulé « remerciements » leur ai dédié et se voudra tant bien que mal le plus exhaustif possible.

Je tiens en premier lieu à remercier Christophe pour m'avoir accordé sa confiance et permis de toucher du doigt le but que je me suis fixé depuis maintenant une dizaine d'années. Rien que pour ça je t'en serais toujours reconnaissant. Je te remercie également pour la qualité de ton encadrement. J'ai beaucoup apprécié nos discussions scientifiques sachant que je pouvais me permettre de ne pas être d'accord avec toi. Il faut cependant bien admettre que tu avais souvent raison. Les discussions plus légères autour d'une bière du nord (qui, elle, ne l'était pas) ont également été fort appréciables. Tout en me laissant une grande autonomie, tu as également toujours su me rassurer quand j'avais des moments de doutes (comme le nombre d'échantillons par stations par exemple !). Pour tout ça, un grand merci à toi. En espérant avoir été un digne Padawan.

Un grand merci à toi aussi Philippe. Tes connaissances et tes qualités d'enseignant, de chercheur et d'encadrant ne sont plus à prouver et ça a été un grand honneur de pouvoir en profiter. Chacun de tes conseils et encouragements étaient d'une grande pertinence et m'ont permis d'avancer dans mon travail en étant constamment poussé à voir plus loin que le bout de mes larves. Tu m'as accordé ta confiance en me permettant d'enseigner au sein de ton master. Quand j'étais encore à la faculté, même si c'est ce que j'espérais, je ne me doutais pas qu'un jour c'est moi qui serais de l'autre côté du bureau, et ça c'est grâce à toi. Merci beaucoup.

Merci beaucoup Carolina pour m'avoir « adopté » en thèse dès ton arrivée à l'IFREMER de Boulogne. Ce fut une vraie chance pour moi de t'avoir à mes côtés. Tu m'as, au même titre que Christophe et Philippe, énormément apporté au cours de ces trois ans. Ta pédagogie et ta positivité ont été un élément moteur pour ma thèse. J'espère vraiment être un jour un jeune chercheur aussi talentueux que toi. Encore merci Caro.

D'une manière générale, c'est tous les trois que je tiens à vivement remercier. J'ai appris plus que jamais auprès de vous, que ce soit pour l'aspect scientifique ou de savoir-vivre. Je souhaite vraiment que vous ayez apprécié travailler avec moi autant que moi avec vous. Plus qu'une équipe de travail, c'est au milieu d'une belle bande de

potes que je me suis retrouvé. J'ai été extrêmement heureux de l'intégrer pendant au moins ces trois années, et je l'espère, de nombreuses autres.

Je tiens également à te remercier Paul. En tant que directeur de thèse et du laboratoire, j'ai beaucoup apprécié travailler avec toi. Malgré tes obligations tu as toujours été disponible quand j'en avais besoin et c'est toi qui m'as orienté sur les aspects plus halieutiques de mon sujet. De plus je te remercie d'accepter et même de participer aux parties de foot « ifremeriennes » hebdomadaires. Tu m'as également autorisé à faire des enseignements au cours de ma thèse, chose peu banale à l'IFREMER. Je ne pense pas me tromper en disant que le laboratoire RH a de la chance de t'avoir en chef. Encore merci à toi.

Un grand merci aux autres membres de mon comité de thèse, Éric Tavernier et Olivier Le Pape. Vos avis éclairés et bienveillants tout au long de ces trois ans ont été d'une grande aide. Toujours dans la bonne humeur, vos différentes disciplines se sont révélées complémentaires et m'ont permis de mener ma barque entre aspects écologiques, halieutiques et biochimiques sans jamais partir à la dérive. Merci à vous deux.

Merci à Dominique Godefroy, directeur du centre IFREMER Manche Mer du Nord et à l'UMR BOREA pour leur accueil durant mes années de thèse.

Merci aux stagiaires de l'équipe ichtyo, Felix Gendrot, Léa Joly, Alexandre Lheriau et Quentin Vallet. Vous avez tous fait un travail remarquable et je vous en félicite vivement. Travailler avec vous a été un réel plaisir. Une bonne partie de ma thèse vous est due. Encore bravo et merci !

Un grand merci également aux techniciens de choc, Valérie Lefebvre, Josselin Caboche et Ugo Werner. Merci Val pour tous les tries de larves que tu as pu faire, Josselin pour avoir manipulé du Bouin sans jamais rechigner et Ugo pour avoir été mon fidèle compagnon de Bongo pendant les campagnes printanières ! J'ai passé de super moments avec vous que ce soit au labo ou en mer. Merci pour votre aide et votre sympathie.

Merci à Jérémy Denis qui a su orienter mes premiers pas de doctorant ichtyo. Après le travail que tu avais accompli durant ta thèse, j'avais une certaine pression. Malgré les obligations qui incombent à un jeune Papa, tu as pris le temps, avec un plaisir certain, de me transmettre tes connaissances sur de nombreux aspects qui m'ont été plus que bénéfique. Merci Jérémy.

Je n'oublie pas Sébastien Monchy, de l'UMR LOG et Sophie Berlant du MNHN pour m'avoir formé aux analyses d'acides nucléiques et d'histologie respectivement. Merci à l'équipe de L'ANSES pour m'avoir permis de manipuler dans leurs locaux.

Des remerciements tout particulièrement chaleureux pour mes frères de thèse avec qui j'ai partagé un bureau, et bien plus encore. Ce n'est pas des collègues mais de vrais amis que j'ai rencontrés. Toujours prêts à s'entraider les uns les autres, je vous dois beaucoup dans l'avancé de mes travaux mais surtout pour avoir rendu ces trois années si géniales. Merci donc à :

Pierre Bourdaud, tu as été le premier à m'accueillir (à bras ouverts) dans cette belle famille de doctorants. One, two, three, viva Khaled Horri! merci pour m'avoir accueilli aussi bien que le Bourdaud durant ma première année de thèse. Matthew McLean, le « American Hammer »! Trois ans ensemble dans le même bureau où j'ai

pu voir ton niveau de Français passer de « inexistant » à « il me semble que au conditionnel il faut mettre un S à la fin ». Bonne chance pour ta nouvelle vie Daddy. Charles-André Timmerman, Charles pour les intimes, « Espèce de porc ! » pour moi. T'es la personne avec qui j'ai partagé le plus de temps durant deux années consécutives, et là il y a franchement le beau geste pour m'avoir autant supporté. Durant tout ce temps j'ai fait en sorte de « t'aïoliser » au possible pour en arriver au constat que tu maîtrises désormais parfaitement les expressions de la langue de Brassens. Je ne garde avec toi que de bons souvenirs l'ami, en espérant qu'il y en ai d'autres ! Léa Joly, dernière recrue du bureau et également de la team Ichtio ! Je t'ai déjà remercié pour tes qualités de stagiaire, et j'en fais autant pour tes qualités de thésarde désormais ! Je suis persuadé que tu vas faire une belle thèse au milieu de la fine équipe qui t'entoure. Prend bien soin d'eux surtout !

Parmi mes confrères, il y en a certains qui n'ont pas eu la chance de poser bagages au RDC, au fond du couloir, à gauche. Ces pauvres hères ont quand même joué un rôle indispensable et je les en remercie. Ce message s'adresse donc à Bachar, Martin, Kelly, Alaïa, Maria! Merci les amis.

Remi et Camille je vous remercie de m'avoir initié aux campagnes IFREMER. C'est avec vous que j'ai fait mes premiers échantillons et vous avez su me former comme il se doit. Geoffrey et Duduss merci, juste pour avoir été mes potes durant ma thèse, vous m'avez bien fait marrer tout en supportant les passages à tabac en période de stress !

Merci à Yves Vérin, Felipe Artigas et à l'équipage de la « Thalassa » et du « Côtes de la Manche » pour m'avoir permis d'embarquer et de mener à bien mes échantillonnages.

Merci aux membres du jury, José Zambonino et Sandrine Vaz en tant que rapporteurs, Eric Thiebaut et Marie Pierre Halm-Lemeille en tant qu'examinateurs pour avoir bien voulu prendre le temps d'évaluer mon travail.

Merci à mes amis de longue date, ceux qui sont venus me voir dans le Nord comme Morgane ou Nico. Merci aussi à ceux que j'ai toujours pris du plaisir à revoir chaque fois que je rentrais en terre Biterroise : ce bon vieux Gomez, le Barazob, Berdague, Derf, Robin, Die Save, Die Leste et j'en passe ! Merci mes amis.

N'oublions pas la famille ! merci au Padre, la Madre, la sœur, les grand-mères, Renata...! vous m'avez toujours autorisé et poussé à faire ce que je voulais. C'est toi Papa qui m'a transmis cet amour pour la mer quand tu étais « trieur de moule » et que tout petit je venais avec toi pour relever les filières et regarder la vie qui grouillait dedans. Maman, malgré tes nombreuses phobies tu m'as toujours permis d'élever toutes sortes de bestioles à la maison et donc d'entretenir ma passion du vivant. Tu m'as également supporté durant mes années ingrates, ou il faut le dire, je n'étais pas le meilleur des élèves à l'école. Clara, 27 ans qu'on se supporte, je t'aime bien quand même et tu mérites ta place dans ce paragraphe bien sûr. Mamy Huguette et Mamy Claudie, merci pour vos nombreuses attentions, vos messages, vos colis envoyés durant cette période où je me suis éloigné de vous. Votre soutien inconditionnel et sans faille restera dans mon cœur ! J'en profite pour dédier cette thèse à mes deux papys, Papy Francis et Papy Loukoum, qui je le sais, auraient été fiers de moi.

“Cela fait si longtemps que je pense que la biologie devrait sembler aussi excitante qu'un roman d'aventures plein de mystères, car c'est exactement ce qu'elle est.” – Richard Dawkins

Dans « Le gêne égoïste » (1976)

*“La nature n’est jamais aussi grande
que dans ses créatures les plus
petites” – Pline l’ancien*

Dans « Le pouce du panda »,
Stephen Jay Gould (1980)

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	9
1 LA MANCHE ORIENTALE ET LA BAIE SUD DE LA MER DU NORD	10
2 L'ECOPHASE LARVAIRE.....	12
2.1 LE CYCLE LARVAIRE	13
2.2 RELATION ENTRE L'ICHTHYOPLANCTON ET L'ENVIRONNEMENT.....	15
2.3 DETERMINISME DU RECRUTEMENT.....	17
3 LA CONDITION LARVAIRE	19
3.1 INDICES HISTOLOGIQUES	20
3.2 INDICES BIOCHIMIQUES.....	23
4 PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS	27
 CHAPITRE 1 : MATERIELS ET METHODES.....	 31
1 STRATEGIES D'ECHANTILLONNAGE	32
1.1 CAMPAGNES OCEANOGRAPHIQUES	32
1.2 OPERATIONS A LA MER.....	40
2 METHODOLOGIE DE LABORATOIRE	44
2.1 TRI ET IDENTIFICATION	44
2.2 CONDITION LARVAIRE	46
 CHAPITRE 2 : INFLUENCES ENVIRONNEMENTALES SUR LES VARIATIONS SPATIO-TEMPORELLES DES ASSEMBLAGES LARVAIRES EN MANCHE ORIENTALE ET EN BAIE SUD DE LA MER DU NORD.....	 55
1 VARIATIONS SPATIO-TEMPORELLES DES ASSEMBLAGES LARVAIRES ET DES CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES LORS DU PREMIER SEMESTRE 2017	57
1.1 TRAITEMENTS DES DONNEES	58
1.2 RESULTATS.....	59
1.3 DISCUSSION	74
2 RECENT CHANGES IN ICHTHYOPLANKTONIC ASSEMBLAGES OF THE ENGLISH CHANNEL¹.....	81
2.1 DATA ANALYSES	83
2.2 RESULTS	87
2.3 DISCUSSION	96
 CHAPITRE 3: EVALUATION DE LA CONDITION <i>IN SITU</i> DE LA SOLE COMMUNE (<i>S. SOLEA</i>) PAR APPROCHE HISTOLOGIQUE	 103
1 COMPARAISON DE LA CONDITION HISTOLOGIQUE DE LA SOLE DE MANCHE ORIENTALE ENTRE DEUX PERIODES CONTRASTEES	104
1.1 TRAITEMENTS DES DONNEES	106
1.2 RESULTATS.....	111
1.3 DISCUSSION	124
2 EVALUATING THE HISTOLOGICAL-BASED CONDITION OF WILD COLLECTED LARVAL FISH: A SYNTHETIC APPROACH APPLIED TO COMMON SOLE²	133
2.1 DATA ANALYSES	135
2.2 RESULTS	137

2.3	DISCUSSION	145
-----	------------------	-----

CHAPITRE 4: VARIATIONS INTERSPECIFIQUES DE LA CONDITION LARVAIRE AU COURS DE LA PERIODE CRITIQUE153

1	TRAITEMENT DES DONNEES	155
1.1	ORIGINE DES DONNEES	155
1.2	INDICE HISTOLOGIQUE	156
1.3	TAUX DE CROISSANCE INSTANTANE	157
2	RESULTATS	159
2.1	VARIATIONS INTERSPECIFIQUES	159
2.2	VARIATIONS TEMPORELLES	168
2.3	VARIATIONS SPATIALES	172
3	DISCUSSION.....	175
3.1	PERTINENCE DES INDICES DANS L'EVALUATION DES DIFFERENCES INTERSPECIFIQUES DE LA CONDITION.....	175
3.2	INFLUENCE DE L'ENVIRONNEMENT, DU TEMPS ET DE L'ESPACE SUR LA CROISSANCE ET LA CONDITION DES LARVES EN PERIODE CRITIQUE	180
3.3	L'APPROCHE MULTI METHODE ET MULTI SPECIFIQUE	182

CHAPITRE 5: ONTOGENETIC SHIFT IN THE ENERGY ALLOCATION STRATEGY AND PHYSIOLOGICAL CONDITION OF LARVAL PLAICE³185

1	DATA ANALYSES.....	187
1.1	DATA ACQUISITION.....	187
1.2	STATISTICAL ANALYSES	188
2	RESULTS	189
2.1	SIZE DISTRIBUTION PER DEVELOPMENT STAGES.....	189
2.2	BIOCHEMICAL INDICES	190
2.3	HISTOLOGY	191
2.4	COMPARISON OF INDICES	195
3	DISCUSSION.....	196

DISCUSSION GENERALE203

1	L'ETUDE DE LA CONDITION LARVAIRE <i>IN SITU</i> : UNE APPROCHE INDIVIDU CENTREE	204
1.1	L'APPROCHE HISTOLOGIQUE	205
1.2	L'INDICE LIPIDIQUE	208
1.3	L'INDICE NUCLEIQUE.....	210
1.4	COMPARAISON DES TROIS APPROCHES.....	214
2	LE CONCEPT DE PERIODE CRITIQUE : UN SEUL STADE DE DEVELOPPEMENT CONTROLE T'IL LE RECRUTEMENT D'UNE ESPECE ?	214
2.1	LE STADE PREFLEXION	215
2.2	LA METAMORPHOSE	218
2.3	L'INSTALLATION	220
2.4	PHASES CRITIQUES ET RECRUTEMENT.....	220
3	VARIATIONS DES ASSEMBLAGES EN REPONSE AUX CHANGEMENTS ENVIRONNEMENTAUX	224
3.1	CHANGEMENTS SAISONNIERS	224
3.2	CHANGEMENTS A LONG TERME	227
4	PERSPECTIVES	230
4.1	DEVELOPPEMENT D'UN NOUVEL INDICE DE CONDITION INTEGRATEUR DU SUCCES ALIMENTAIRE	230

4.2	INTEGRER LES MESURES DE CONDITION A LONG TERME DANS LES MODELES DE RECRUTEMENT	232
4.3	ALLER PLUS LOIN DANS LA COMPREHENSION DES FACTEURS DE FORÇAGE DU RECRUTEMENT	235
5	CONCLUSION	237

REFERENCES.....	239
------------------------	------------

ANNEXES.....	257
---------------------	------------

Liste des figures

Figure 1 Carte de la zone d'étude.	11
Figure 2 Stades de développement larvaire. Exemple de la sole commune (<i>Solea solea</i>).	14
Figure 3 Illustration de l'hypothèse de la « période critique » de Hjort (1914). Issu de Denis (2016). Modifiée de Houde (2008).	18
Figure 4 Stations d'échantillonnage réalisées durant la campagne IBTS 2017.	33
Figure 5 Localisation des stations échantillonnées durant les campagnes présentées dans le Tableau 2.	35
Figure 6 Localisation des stations échantillonnées durant les campagnes REIVES.	37
Figure 7 Localisation des stations échantillonnées durant la campagne PHYCO.	38
Figure 8 Zones d'échantillonnage du programme IGA.	39
Figure 9 Schéma du protocole d'échantillonnage aux stations et de traitement des échantillons des différents types de filets.	40
Figure 10 Filet MIK utilisé durant la campagne IBTS.	41
Figure 11 Filet Bongo utilisé durant les campagnes printanières.	42
Figure 12 Vue générale de la coupe histologique d'une larve de plie de stade 4. Les codes en bleu correspondent aux organes ciblés pour l'évaluation de la condition. B : Bouche ; Br : Branchies ; C : Cœur ; Ce : Cerveau ; F : Foie ; Ia : Intestin antéro moyen ; Ip : Intestin postérieur ; My : Myomères ; O : Œil ; Oe : Oesophage ; P : Pancréas.	48
Figure 13 Résultats des calculs des tests de corrélation de Pearson réalisés sur toutes les variables mesurées durant la campagne IBTS 2017. Le R^2 est écrit en rouge et la p-value en noir.	60
Figure 14 Distribution spatiale des paramètres hydrobiologiques pendant l'hiver (mi-Janvier-mi-Février) en MO-Mer du Nord. Les stations de mesures ont été représentées dans la carte des températures.	62
Figure 15 Répartition des abondances et des proportions des stades de développement de la plie durant IBTS 2017. Les croix signifient une absence de larve.	64
Figure 16 Résultats des tests de corrélation réalisés sur toutes les variables mesurées durant les campagnes REIVES et PHYCO. Le R^2 est écrit en rouge et la p-value en noir.	65
Figure 17 Distribution spatiale des paramètres hydrobiologiques pendant le printemps (mars à mai) le long des côtes de MO. Les stations de mesures ont été représentées dans les cartes des températures.	67
Figure 18 Répartition des abondances et des proportions des stades de développement de la sole en MO durant le printemps 2017. Les croix signifient une absence de larve.	71
Figure 19 Répartition des abondances du merlan en MO durant le printemps 2017. Les croix signifient une absence de larve.	72
Figure 20 Répartition des abondances du sprat en MO durant le printemps 2017. Les croix signifient une absence de larve.	73
Figure 21 Location of sampling stations. Colours correspond to the three areas used for the Kruskal-Wallis test (grey = area A; black = area B and red = area C). Open circles are stations which were not allocated to an area.	83
Figure 22 Larval abundances (ind.100m ⁻³ , log-transformed) by year (top) and month (bottom). Numbers inside the box plots are the proportions (%). For each plot, only the taxa accounting for 80% of the cumulative abundance are represented. Taxa abbreviations are given in Table 7.	90
Figure 23 Principal coordinate analysis, factorial plane of the first two axes. Only taxa contributing significantly to the period separation along the axes are represented (permutation test, 999 permutations). Taxa abbreviations are given in Table 7. The barycentric position of each survey (indicated as month and year) is also represented.	91
Figure 24 OMI analysis: scatter plot of the first two axes. Arrow lengths represent the quality of representation of variables in boxes. Taxa abbreviations are given in Table 7.	93
Figure 25 Radarchart of OMI (marginality) and tolerance (Tol) values for the 30 taxa. Red boxes show non-significant taxa. Taxa abbreviations are given in Table 7.	94
Figure 26 Variance partitioning analysis. Venn diagram showing the percentage of variation explained in the larval assemblages by each of the spatial, environmental, seasonal and annual effects. ***: $P < 0.001$	95
Figure 27 Abondances des larves de soles et proportion de chacun des stades de développement pour les stations échantillonnées au cours des cinq campagnes. Les croix signifient qu'aucune larve de sole n'a été capturée dans la station. n.b : les échelles d'abondance ne sont pas les mêmes entre les campagnes par soucis de visibilité.	112

Figure 28 Distribution des abondances des différents stades de développement (1-5) des larves de soles pour les cinq campagnes.	113
Figure 29 Proportion des six grades de condition (Boulhic, 1991) en fonction du stade de développement, toutes campagnes confondues.	115
Figure 30 Distribution de la longueur standard (SL) des larves de sole de stade 2 en fonction (A) des différentes campagnes et (B) des grades de condition. Le nombre d'individus et la SL moyenne par facteur sont indiqués. Mean : moyenne.	116
Figure 31 Droite; Résultats de la CAH sur les coordonnées des quantiles de variables environnementales. Gauche; Plan factoriel des deux premiers axes de l'AFC sur les effectifs des grades dans chaque classe de variables environnementales. La couleur des classes a été réalisée selon les résultats de la CAH. Les campagnes ont été ajoutées en variables supplémentaires.	118
Figure 32 Proportion des six grades de condition chez les larves de sole de stade 2 en fonction de l'année pour les campagnes d'avril et mai.	120
Figure 33 Représentation des résultats de l'analyse WitOMI. Les sous-ensembles des grades pour les deux années ont été représentés (E_1995 et E_2017) au sein de l'environnement total (E). Pour chaque sous-ensemble le barycentre de la distribution est indiqué (G_K). Pour chaque grade au sein d'un sous-ensemble, la longueur des flèches correspond à sa marginalité par rapport à G_K. Les poids canoniques, des variables environnementales, issus de l'OMI ont été ajoutés.	123
Figure 34 MCA of criteria and their modality (1-3). The factorial plan of the first two axes is represented. Boulhic's grades were used as supplementary variables and are plotted at their barycentric position. Colors depict groups (A-D) obtained from the clustering analysis and association of the grades with these groups. Abbreviations are given in Table 15.	139
Figure 35 Groups of criteria with their modality obtained from the clustering analysis. IndVals of the Boulhic's grades within each group are given and significant ones ($P < 0.05$; 999 permutations) are indicated in grey cells.	141
Figure 36 Proportions of the Boulhic's grades within the six groups of individuals obtained from the clustering.	143
Figure 37 Association (only significant IndVals are represented, $P < 0.05$, 999 permutations) between criteria and their modalities (Mod.) and the six groups of individuals obtained from the clustering. Groups IV and V were not associated with any particular criterion.	144
Figure 38 Proportion of the three grades of condition depending on development stages of sole larvae.	151
Figure 39 Localisation des trois zones définies pour cette étude.	156
Figure 40 Proportions des trois grades histologiques pour chacune des trois espèces. Grade 1 : mauvaise condition ; grade 2 : intermédiaire ; grade 3 : bonne condition.	159
Figure 41 ACM des critères histologiques et de leurs modalités (rouge = 1; vert = 2; bleu = 3). Les grades sont représentés en tant que variables supplémentaires. Les acronymes sont ceux utilisés dans le chapitre 3.2.	160
Figure 42 Boîtes à moustache du taux de croissance instantané (G_i) des trois espèces. Mean : moyenne.	164
Figure 43 Régression linéaire du G_i en fonction de la quantité d'ADN comme proxy de la biomasse. La partie grisée représente l'erreur standard (SE).	165
Figure 44 Représentation graphique des RDA des indices nucléiques contraints par les variables du modèle simplifié. Les variables bleues sans flèche sont les variables nominales.	168
Figure 45 Proportion des trois grades histologiques pour chacune des trois espèces en fonction des campagnes. Grade 1 : mauvaise condition ; grade 2 : intermédiaire ; grade 3 : bonne condition. REIVE 1, mars ; PHYCO, avril ; REIVE 2, mai.	169
Figure 46 Distribution des valeurs mesurées de G_i (Jours^{-1}) et IR en fonction des campagnes d'échantillonnage pour le merlan, la sole et le sprat. Mean : moyenne. REIVE 1, mars ; PHYCO, avril ; REIVE 2, mai.	170
Figure 47 Proportion des trois grades histologiques pour chacune des trois espèces en fonction des zones. Seules les données issues des campagnes REIVE 2 et PHYCO ont été utilisées. Grade 1 : mauvaise condition ; grade 2 : intermédiaire ; grade 3 : bonne condition.	172
Figure 48 Distribution des valeurs mesurées de G_i (Jours^{-1}) et IR en fonction des zones d'échantillonnage pour le merlan, la sole et le sprat. Seules les données issues des campagnes REIVE 2 et PHYCO ont été utilisées. Mean : moyenne.	174
Figure 49 Sampling stations where larvae were sorted for analysis.	187
Figure 50 Range of SL observed for each development stage.	189
Figure 51 Biochemical indices according to development stage of plaice larvae. A: instantaneous growth rate (G_i , days^{-1}); B: Total lipids amount (TL; mg); C: TAG:Chol index.	190

Figure 52 Distribution of histological grades for each stage. Grade 1: emaciated; grade 2: intermediate; grade 3: healthy.....	192
Figure 53 Proportion of liver vacuoles scores according to stages. 1: Absence of vacuoles; 2: rare and dispersed vacuoles; 3: numerous and wide vacuoles.....	193
Figure 54 Sagittal histological section of larvae liver plaice. Magnification X1000; oil immersion. A: Score 1. Absence of vacuoles. Hepatocytes are small with small and mostly indistinct nucleus. B: Score 2. Vacuoles are rare and scattered. Hepatocytes are medium and distinct. Nucleus is central with extended nucleoli. C: Score 3. Vacuoles are numerous and wide. Hepatocytes are large and distinct. Nucleus is lateral with reduced and distinct nucleoli. S: Sinusoids; V: Vacuoles; N: Nucleus.	194
Figure 55 CA of the proportion of individuals of each stage on the three quantiles of Gi and TAG:Chol indices and on the three histological grades of condition and liver vacuoles scores. Colour code depicts quantiles and histological indices levels.	196
Figure 56 Schéma conceptuel de l'effet des risques biotiques sur les conditions histologiques observables en expérimental et dans le milieu naturel au cours du temps. J : jeûne ; P : risque biotique ; C : condition. 1 = niveau maximal ; 0 = niveau minimal.	207
Figure 57 Schéma conceptuel de l'asynchronie entre la décroissance de la condition physiologique du niveau de réserve et celle de la condition physique tissulaire. J : jeûne ; R : réserve ; C : condition. 1 = niveau maximal ; 0 = niveau minimal.	209
Figure 58 Schéma conceptuel traduisant l'effet simultané de la taille et de la condition sur le taux de croissance réalisé par les larves de poissons au cours du temps. Trait plein = larve âgée ; pointillés = larve jeune.	213
Figure 59 Schéma de l'impact des phases critiques du développement des larves de poissons sur leurs abondances. Les pressions dominantes selon l'ontogénie sont représentées par les hypothèses qui les décrivent. Les stratégies (croissance et mise en réserve) et le risque de mortalité prédominant (prédation ou jeûne) ont été schématisés sous forme de balances. (Modifié et adapté de Houde, 1987).....	223
Figure 60 Illustration des différences environnementales biotiques rencontrées par les assemblages larvaires printaniers et hivernaux. Les espèces représentées sont celles dominantes (cf. chapitre 2.2). Illustrations des larves issues de Russel (1976).	225
Figure 61 Schéma résumant le protocole d'un futur indice de condition basé sur les mesures isotopiques intégrant les conditions dans le temps. Le taux de dilution de la signature isotopique maternelle est proportionnel au succès alimentaire des larves de poissons. Silhouettes libres de droit (ian.umces.edu/imagelibrary/).	231
Figure 62 Protocole de 1) l'étude <i>ex situ</i> des réponses fonctionnelles de prédation en fonction du niveau de condition des proies (larves de poissons), 2) l'étude <i>in situ</i> de l'incidence du jeûne dans les cohortes larvaires et 3) du couplage des résultats obtenus.	236

Liste des tableaux

Tableau 1 Date et durée des différentes campagnes d'acquisition des données. Les navires ont été précisés (CDLM: Côte de la Manche) ainsi que les engins de pêche (MIK: Midwater Ringnet), le nombre de stations et les espèces ciblées.....	32
Tableau 2 Dates de début et de fin des campagnes ichtyoplanctonologiques réalisées dans les années 1990 et utilisées dans la présente thèse. Le nombre de stations échantillonnées au filet bongo a été précisé.	35
Tableau 3 Dates de sorties en mer des prélèvements IGA	39
Tableau 4 Proportion, abondances moyennes non nulles et fréquence d'occurrence (pourcentage de stations avec présence) des dix taxons les plus abondants durant la campagne IBTS 2017.	63
Tableau 5 Valeurs moyennes, minimales, maximales et écarts types des paramètres environnementaux mesurés au cours des trois campagnes printanières.....	66
Tableau 6 Proportion, abondances moyennes non nulles et fréquence d'occurrence (pourcentage de stations avec présence) des dix taxons les plus abondants durant les trois campagnes du printemps 2017.....	69
Table 7 List of the most frequently found fish larval taxa between 1993 and 2017 in the sampling area. Codes used in figures are also indicated.	87
Table 8 Results of the Kruskal-Wallis tests comparison between years and areas (see Figure 21) for April and May surveys.	89
Tableau 9 Proportion, abondance moyenne et fréquence d'occurrence (pourcentage de stations avec présence) des différents stades de développement pour les cinq campagnes. Les résultats du test posthoc (Tukey) sur les abondances ont été annotés où une lettre identique signifie une absence de différence significative.	114
Tableau 10 Gammes de valeurs des classes des variables environnementales suivant les différents quartiles. Q25 : 0-25% ; Q50 : 25-50% ; Q75 : 50-75% ; Q100 : 75-100%.....	117
Tableau 11 Tableau des grades retenus dans l'AFC selon leur valeur indicatrice (IndVal > 0,3 et P < 0,1) et selon leur groupe d'appartenance.....	119
Tableau 12 Paramètres et significativité (test de permutation, 999 permutations) de l'enveloppe environnementale obtenue par l'OMI pour les cinq grades.....	122
Tableau 13 P-value des variables sur la position des sous-ensembles. (Test de permutation, 999 permutations).....	122
Tableau 14 Paramètres de marginalité (WitOMIG et WitOMIG_K) et de tolérance (TolG et TolG_K) obtenus par l'analyse WitOMI pour les différents grades en fonction des deux années.	124
Table 15 Summary table built from the literature review describing modalities of each criterion for the different organs. Modalities for presence of prey are also indicated.....	138
Table 16 P-values of Chi ² tests of independence of criteria regarding Boulhic's grades and prey presence. Grey cells indicate independence with grades and dependence with presence of prey....	142
Tableau 17 Descriptions des espèces étudiées. Les durées larvaires sont issues de Russel (1976) et Fonds (1979); et les proies principales de Nunn et al. (2011).	155
Tableau 18 Nombre d'individus de chaque espèce analysée par indice en fonction des zones et des campagnes. Gi : taux de croissance instantané; IR: Indice résiduel. Pour IGA seuls la sole et le sprat ont été analysés par histologie.	156
Tableau 19 IndVals significatives de chacun des critères et modalités pour chaque grade et espèce. Les cases barrées correspondent aux critères non notés. Les cases grises correspondent à une absence de significativité de la IndVal. Les acronymes sont ceux utilisés dans le chapitre 3.2.....	162
Tableau 20 Sorties des modèles linéaires du Gi en fonction de la quantité d'ADN. SE : erreur standard.....	166
Tableau 21 Résultat des RDA complètes et simplifiées. P : 0 = ***, <0,001 = **; <0,01 = *.	166
Tableau 22 P-value des tests de Dunn avec correction de Bonferroni (test de Wilcoxon pour le merlan) de la comparaison des Gi et IR relevés entre les campagnes d'échantillonnage. P : 0 = ***, <0,001 = **; <0,01 = *.	171
Tableau 23 P-value des tests de Dunn avec correction de Bonferroni de la comparaison des Gi et IR relevés entre les zones d'échantillonnage. P : 0 = ***, <0,001 = **; <0,01 = *.	173
Table 24 Number of individuals by development stage used for each analysis.	188
Table 25 Limits of classes based on quantiles for TAG:Chol and growth rate indices.	195

Liste des abréviations

Français	Anglais	Signification
ACM	MCA	Analyse des correspondances multiples
AFC	CA	Analyse factorielle des correspondances
OAM	AMO	Atlantic multidecadal oscillation
BSMN	SBNS	Baie sud de la mer du nord
CAH		Classification ascendante hiérarchique
Chol	Chol	Cholestérol
Gi	Gi	Indice de croissance instantané
IndVal	IndVal	Valeur indicatrice
IR	IR	Indice résiduel
LN		Lipides neutres
MES		Matière en suspension
MO	EEC	Manche orientale
OMI	OMI	Outlying Mean index
P	P	P-value
PCoA	PCoA	Principal Coordinates Analysis
PL	PL	Phospholipides
RD	RD	Rapport ARN/ADN
RDA	RDA	Analyse de redondance
SE	SE	Erreur standard
	SL	Longueur standard
TAG	TAG	Triglycérides
TL		Lipides totaux

Introduction générale



1 La Manche orientale et la baie sud de la mer du Nord

La Manche orientale (MO) et la baie sud de la mer du Nord (BSMN) sont des mers épicontinentales caractérisées par de forts effets hydrodynamiques causés par un régime de marées mégatidal et séparées par le détroit du pas de Calais (Figure 1). Cette advection d'eau entraîne un courant résiduel de la Manche en direction de la mer du Nord. L'hydrodynamisme favorise la séparation des eaux côtières françaises vis-à-vis des eaux centrales d'origine atlantique. La frontière entre ces deux masses d'eaux adjacentes est une zone frontale qui varie en intensité et configuration en fonction du cycle de marée et des conditions météorologiques, en particulier les vents (Brylinski et Lagadeuc, 1990). Il existe des situations où cette zone frontale disparaît atténuant son influence comme lors de périodes de marée basse, favorisant ainsi les échanges entre les eaux côtières et continentales (Dupont et al., 1991). La masse d'eau côtière s'individualise sur trois à cinq milles marins de largeur formant "le fleuve côtier" (Brylinski et Lagadeuc, 1990) et reçoit d'importants apports d'origine continentale provenant des fleuves (e.g Seine, Somme, Authie, Canche en MO et Escaut et Tamise en BSMN).

En MO, les apports continentaux favorisent la présence d'un gradient prononcé de la côte vers le large pour de nombreux paramètres hydrobiologiques tels que la température, la salinité, la densité, la turbidité, la concentration en sels nutritifs, ou pour le phytoplancton et le zooplancton (Brylinski et Lagadeuc, 1988, 1990; Dupont et al., 1991). Ainsi, la masse d'eau côtière est caractérisée par une forte turbidité, une faible salinité et une forte biomasse phytoplanctonique (Brylinski et Lagadeuc, 1990). Cette séparation hydrologique influence la distribution du zooplancton avec deux communautés distinctes définies par différentes espèces dominantes (Brylinski, 1986). Cela est également vrai pour les assemblages

ichtyoplanctoniques (i.e larves de poissons) qui, en fonction de la configuration verticale du front, sont soit accumulés au niveau de la zone frontale soit séparés en assemblages côtiers et hauturiers (Grioche et Koubbi, 1997; Grioche et al., 1999).

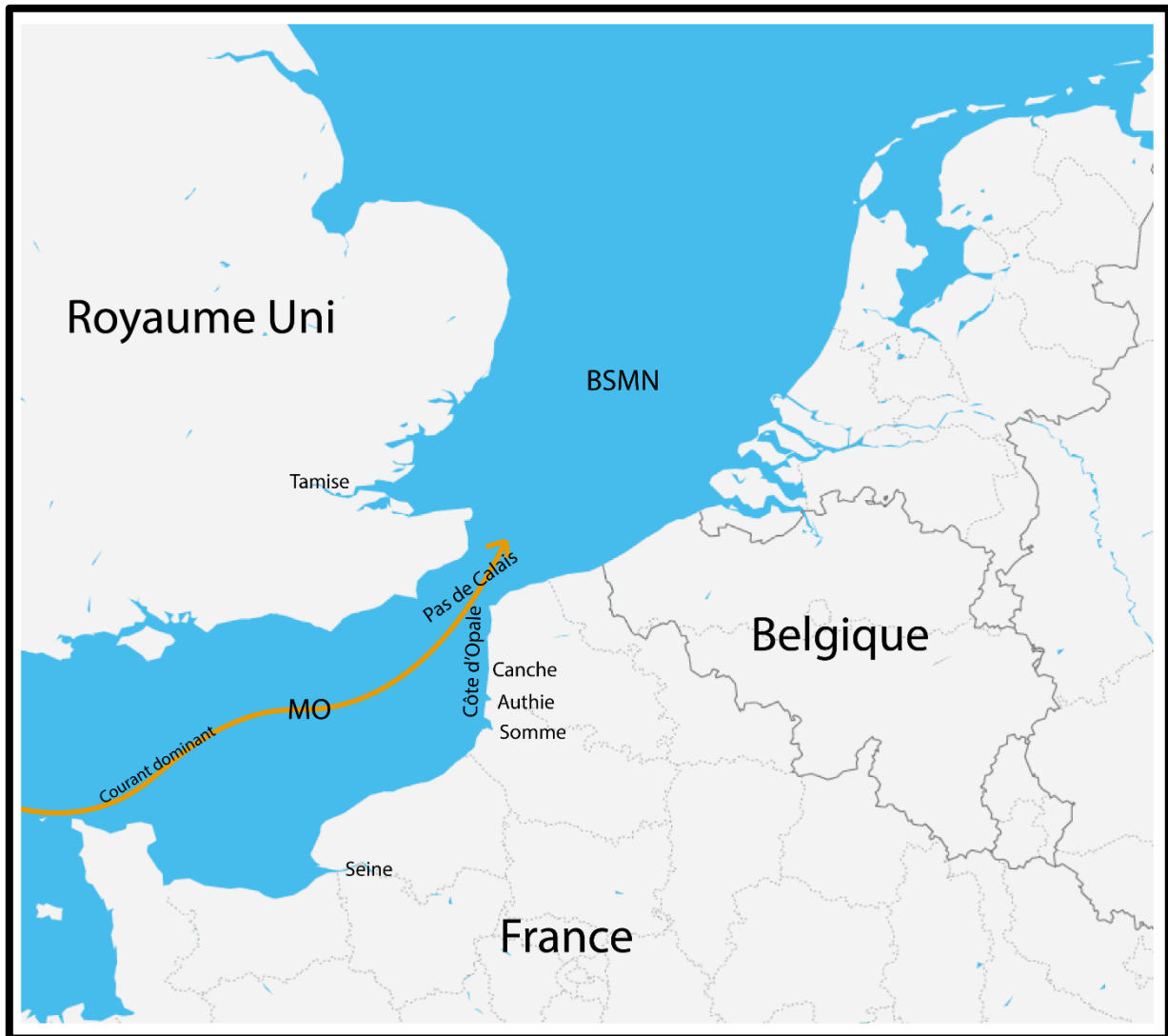


Figure 1 | Carte de la zone d'étude.

Passé le détroit du Pas de Calais, le courant résiduel arrive dans la BSMN. La température de surface de cette région est légèrement plus froide qu'en Manche avec une gamme de températures annuelles variant entre 4 et 14°C (pour une

gamme de 6 à 18°C en Manche), principalement dû à l'entrée d'eaux plus froides provenant de la Mer Baltique (Turrell, 1992). L'influence tidale sur les courants est très élevée dans la BSMN, tandis que la circulation de la partie nord de la mer du Nord est surtout liée aux eaux atlantiques, à la topographie des fonds marins, et au régime de vents dominants (Kauker et von Storch, 2000). Il résulte de ces phénomènes un schéma circulatoire majoritairement fait de gyres anti horaires. La BSMN de par sa faible profondeur ne connaît que peu de stratification (Clark et Frid, 2001). De même que pour la MO, les communautés planctoniques sont structurées spatialement (Planque et Fromentin, 1996; Russell, 1935) et saisonnièrement (Colebrook, 1982; Planque et Fromentin, 1996). Des changements environnementaux tel que le réchauffement de l'eau, ont montré des effets sur les communautés planctoniques en mer du Nord. En effet, l'augmentation des températures en mer du Nord aurait conduit à un changement des espèces planctoniques dominantes (Beaugrand, 2003). Les variations et l'augmentation de la température de l'eau affectent également la phénologie et l'abondance des organismes planctoniques. Les fluctuations du plancton observées par Beaugrand et al. (2003) expliqueraient la baisse du recrutement observé chez la morue en raison d'une baisse du taux de survie des larves.

2 L'écophase larvaire

En MO, on observe différents assemblages de stades larvaires entre les eaux centrales et les eaux côtières (Grioche et Koubbi, 1997; Grioche et al., 1999; Koubbi et al., 2006). En effet, pour la plupart des espèces, les zones de frayères en MO se situent au large où se concentrent les œufs et les jeunes stades tandis que les stades plus âgés se retrouvent principalement au sein des eaux côtières. Une autre

partie des œufs et larves est transportée par le courant résiduel vers la mer du Nord (Grioche et al., 1999 ; Koubbi et al., 2006).

2.1 Le cycle larvaire

L'écophase larvaire des poissons, ou ichtyoplancton, peut être subdivisée en plusieurs stades de développement. Durant leur vie larvaire, les poissons vont subir des transformations anatomiques majeures avant d'atteindre leur phase juvénile, caractérisée par l'apparition de tous les rayons des nageoires, la formation des écailles et des modifications majeures au niveau comportemental et écologique (Miller et Kendall, 2009). La vie larvaire est généralement différenciée en plusieurs stades (Figure 2) selon deux principaux facteurs : la présence du sac vitellin et la forme de la notochorde (Moser, 1984).

Le stade 1 commence après l'éclosion de l'oeuf. Il est caractérisé par la présence du sac vitellin. Les larves de stade 1 ont une nutrition endogène exclusivement assurée par l'apport nutritif des réserves vitellines (Johns et Howell, 1980). Durant le stade 1, chez de nombreuses espèces, la bouche n'est pas totalement développée ou ouverte et les yeux ne sont pas fonctionnels. Les nageoires ne sont pas différenciées et le corps des larves est entouré par une nageoire primordiale. Le stade 1 prend fin lorsque le sac vitellin est résorbé et que la larve passe d'une nutrition endogène à une nutrition exogène. Les stades suivants sont divisés selon le degré de flexion de la partie terminale de la notochorde.

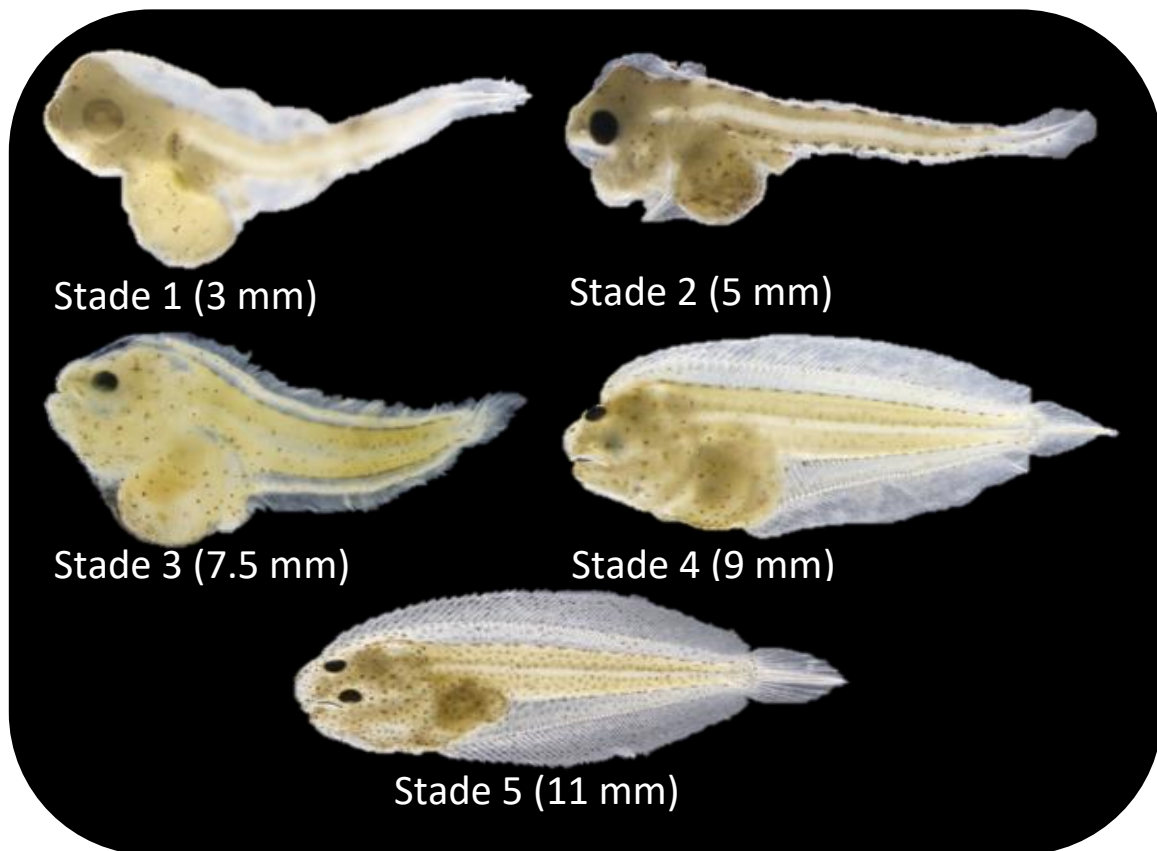


Figure 2 | Stades de développement larvaire. Exemple de la sole commune (*Solea solea*).

Lors du stade 2 la notochorde reste droite, il se termine quand la notochorde commence à se fléchir vers le haut. On parle de stade « préflexion ». La larve développe rapidement ses capacités natatoires, sensorielles et intestinales afin d'optimiser la capture et l'assimilation de proies nécessaires à sa survie. La respiration reste cependant majoritairement cutanée.

Le stade 3, appelé stade « flexion » est caractérisé par l'initiation de la flexion de la notochorde induisant le développement hypocordal de la nageoire caudale. Outre le développement des organes internes et locomoteurs, ce stade est également marqué par un début d'ossification des rayons et des autres pièces du squelette.

Lorsque la notochorde est complètement fléchie, la larve entame le stade 4, appelé stade « postflexion ». C'est durant ce stade que la larve acquiert une totale ossification du squelette et que la respiration devient branchiale. Pour les poissons plats, Ryland (1966) définit le début du stade 4 comme le moment où l'œil gauche (ou droit chez les bothidae) a entamé sa migration. Ce stade larvaire prend fin lorsque tous les rayons sont développés.

Le stade 5 concerne uniquement les poissons plats qui l'atteignent lorsque les deux yeux se retrouvent sur la même face. Les poissons plats connaissent ainsi des changements anatomiques majeurs entre le stade 4 et juvénile. Cette période de transition de larves pélagiques bilatéralement symétriques vers des juvéniles benthiques et asymétriques s'appelle la métamorphose (Christensen et Korsgaard, 1999). Cette phase prend fin lorsque les individus acquièrent toutes leurs caractéristiques juvéniles et s'installent au sein de leur nourricerie généralement côtière.

2.2 Relation entre l'ichtyoplancton et l'environnement

Les larves de la plupart des espèces de poissons sont méroplanctoniques (i.e qui ne passent qu'une partie de leur existence dans le plancton) et passent au stade nectonique à la métamorphose. N'étant pas dotées de capacités de nage active, les jeunes larves sont donc soumises à une dérive contrainte par les courants pour atteindre les zones de nourricerie. Certaines de ces zones sont des zones de rétention qui sont liées à l'hydrodynamisme local tel que les fronts et les gyres qui, en MO et dans la BSMN, sont majoritairement localisés à proximité des estuaires et liées aux eaux côtières (Brylinski et Lagadeuc, 1990 ; Koubbi et al., 2006). Les larves issues des systèmes de gyres peuvent lors de la déstructuration de ces derniers se retrouver dans un courant général les faisant dériver le long de la côte. Là, les larves

peuvent se diriger vers des structures de rétention de petite taille en face des estuaires ou poursuivre leur dérive vers la mer du Nord (Grioche et al., 2000). Pour celles qui sont plus au large, le transfert vers la côte et les estuaires de la côte d'Opale dépendra de la déstructuration ou de la conformation de la zone frontale côtière. Par ces divers mécanismes, les larves ont ainsi le moyen de gagner la côte et de s'y maintenir. Ainsi, l'écophase larvaire des poissons assure le lien entre frayères en haute mer occupées par les adultes et les nourriceries côtières des juvéniles (Harden Jones, 1968).

Les écophases larvaires subissent les plus fortes mortalités dans le cycle de vie des poissons. Plusieurs études évaluent le taux de mortalité de ces phases à 99% (Bailey et Houde, 1989 ; Houde, 2008 ; Houde et Hoyt, 1987 ; Leis, 1991). Cette forte mortalité est due à l'extrême vulnérabilité des phases planctoniques face aux paramètres biotiques et abiotiques de l'environnement, et leurs effets synergiques.

Les facteurs abiotiques comme la température, la salinité ou l'hydrodynamisme influencent la survie des larves de par leurs effets sur le taux de croissance individuel (Blaxter, 1991 ; Frank et Leggett, 1981, 1982 ; Koumoundouros et al., 2001). Le transport larvaire vers des zones non favorables peut donc induire une baisse du taux de croissance dû à des conditions non optimales. Ceci conduit à prolonger la phase sensible planctonique des poissons, diminuant ainsi leur chance de survie. En effet, il est communément admis que plus un taux de croissance est élevé, plus le taux de survie augmente (Pepin, 1991, 2016). Les changements abiotiques, en plus d'impacter de manière directe le métabolisme des larves, induisent des variations de communautés des niveaux trophiques supérieurs et inférieurs (i.e variations biotiques) aux larves de poissons, influençant directement leur taux de survie de par un changement de la pression de prédation et/ou de la

disponibilité en nourriture. Bien que la mortalité par prédation soit difficilement estimable dans le milieu naturel, il est admis que le jeûne et la prédation sont les deux pressions biotiques les plus fortes sur la survie des larves de poissons et qu'elles interagissent (Anderson, 1988; Hunter, 1976).

2.3 Déterminisme du recrutement

Le renouvellement des populations de poissons et ses variations annuelles sont principalement influencés par le taux de mortalité rencontré par les phases larvaires (Houde, 2008). Cette hypothèse signifierait que le nombre d'individus atteignant l'âge adulte est directement et principalement lié au nombre de « jeunes de l'année » survivants. Le recrutement, d'un point de vue halieutique, est défini comme le moment où une classe d'âge entre dans la population exploitée. Ainsi, la compréhension des processus impliqués dans la survie des stades larvaires est un objectif fondamental en écologie halieutique (Bailey et Houde, 1989 ; Houde et Hoyt, 1987).

Hjort (1914, 1926) fut le premier à formuler une hypothèse faisant le lien de causalité entre l'alimentation, la survie des larves et le recrutement. La théorie de la « période critique » propose que le recrutement soit déterminé peu de temps après la résorption du sac vitellin quand les larves deviennent dépendantes des ressources alimentaires du milieu. Cette période critique est donc le moment où les larves sont les plus sensibles au jeûne et correspond au stade de développement 2 (préflexion de la notochorde et résorption du sac vitellin) (Ryland, 1966; Shelbourne, 1953). Ce serait donc durant ce stade 2 que les larves subiraient le plus fort taux de mortalité (Figure 3).

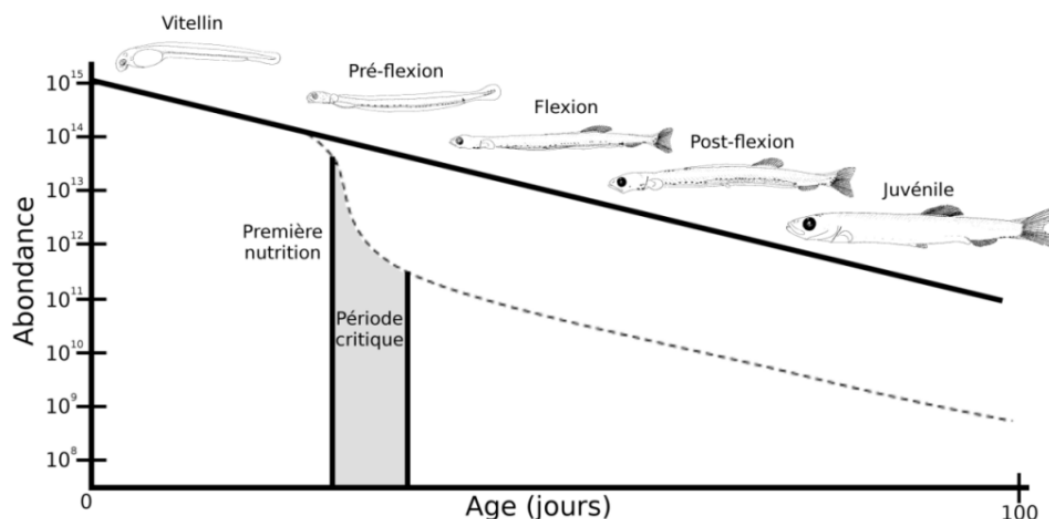


Figure 3 | Illustration de l'hypothèse de la « période critique » de Hjort (1914). Issu de Denis (2016). Modifiée de Houde (2008).

Les hypothèses sur le recrutement en lien avec la survie des larves de poissons se sont largement développées suite aux hypothèses de Hjort et se divisent en deux catégories en fonction des facteurs exogènes considérés, à savoir les facteurs biotiques et abiotiques (Somarakis et al., 2017). Les hypothèses physiques (ou abiotiques) portent principalement sur le transport et la rétention des larves vers des zones appropriées. On citera par exemple les hypothèses de dérive aberrante (Hjort, 1914), d'océan stable (Lasker, 1978) ou encore de « member-vagrant » (Iles et Sinclair, 1982). La mortalité due aux facteurs biologiques est principalement due à la prédation et au jeûne (Hjort, 1914 ; Anderson, 1988; Hunter, 1976), leur incidence variant au cours de l'ontogenèse. Pour Hewitt et al. (1985), la prédation est la principale source de mortalité des larves vitellines alors que les individus plus âgés sont plus impactés par le jeûne. Les hypothèses trophodynamiques du recrutement portent ainsi sur la disponibilité alimentaire comme celles de la période critique (Hjort, 1914) ou l'hypothèse du match/mismatch (Cushing, 1990). Elles soulignent le défi des populations de poissons à faire coïncider temporellement et spatialement le pic d'éclosion avec celui d'abondance des proies. Dans leur publication, Sinclair et

Tremblay (1984) mettent en évidence le fait que les zones de rétention larvaire n'étant pas toutes identiques en termes hydrobiologiques, la période de bloom planctonique varie d'une zone à l'autre. Ainsi, en accord avec l'hypothèse du match/mismatch, les périodes de fraie peuvent varier considérablement entre les populations d'une même espèce pour répondre aux différences en termes de prolifération phytoplanctonique et zooplanctonique dans la zone de répartition des larves.

Les hypothèses de recrutement, biotiques (disponibilité alimentaire et prédation) ou abiotiques (hydrodynamique), ne sont pas indépendantes et ont des effets synergiques puisque la prédation et la disponibilité alimentaire sont également spatialisées. De cette manière, comprendre les mécanismes de la mortalité des larves de poissons ne conduit pas à identifier un facteur unique, mais une combinaison de facteurs biotiques et abiotiques en interaction (Somarakis et al., 2017).

3 La condition larvaire

C'est en 1957 que le terme de condition est employé pour la première fois pour définir le statut nutritionnel de larves de poissons par l'analyse des contenus digestifs et mesures morphométriques (Shelbourne, 1957). Depuis, les méthodes d'acquisition des conditions physiques (morphologie, état tissulaire) et physiologiques (croissance, création de réserves énergétiques) des larves se sont largement diversifiées. Les méthodologies souvent employées sont généralement l'estimation des proies présentes dans les contenus digestifs, ainsi que l'utilisation de méthodes indirectes comme la biochimie (classes lipidiques, ARN/ADN), ou encore l'histologie. Ces différentes méthodes permettent d'intégrer les conditions trophiques

rencontrées par les larves de poissons, le jour même (contenus digestifs) ou lors des jours précédents la capture (méthodes indirectes). Les indices de condition peuvent être divisés en trois catégories en accord avec les principaux niveaux d'organisation du vivant (Diaz et al., 2014; Ferron et Leggett, 1994) : à l'échelle de l'organisme (analyse morphologique), à l'échelle tissulaire (histologie) et à l'échelle cellulaire (biochimie et histologie).

De nombreuses techniques sont donc disponibles pour évaluer la condition larvaire des poissons suivant les secteurs, les saisons ou les stades de développement et peuvent fournir des informations sur la proportion de larves en condition de jeûne sévère ou en "point de non-retour". Le "point de non-retour" correspond au moment où, même si elles se réalimentent, les larves ont leurs organes trop dégradés pour survivre. Ceci est dû à la perte irréversible des capacités digestives par dégénération du tube digestif et des organes associés (Miller et al., 1988).

Dans les paragraphes suivants sont présentés les différents indices de condition qui ont été employés durant cette thèse.

3.1 Indices histologiques

L'évaluation de la condition larvaire par approche histologique a été réalisée pour la première fois par Umeda et Ochiai (1975), suivis de près par O'Connell (1976). Ces études expérimentales ont identifié qu'au moment du passage de la nutrition endogène à exogène, la survie et le développement des larves de poissons sont fortement dépendants d'un apport nutritionnel approprié. Ainsi, une courte période de jeûne (~3-6 jours post éclosion) peut entraîner une forte mortalité. De plus, ces auteurs ont montré que la privation de nourriture entraîne des signes de dégénérescence des cellules de l'intestin, du pancréas et du foie. Cette

dégénérescence tend à devenir plus grave suite à un jeûne prolongé, ce qui permet de définir des grades qui permettent de déterminer le niveau de jeûne des individus (Gisbert et al., 2008).

L'histologie peut être utilisée pour estimer la condition et/ou la probabilité de mort des individus. La méthode se base sur l'examen et la notation de tissus et cellules cibles, en fonction de la présence/absence ou de l'état de différents biomarqueurs (critères tissulaires). L'examen de ces critères histologiques permet ensuite d'obtenir une mesure de la condition générale de la larve (i.e grade de condition). La chronologie dans la dégénérescence des organes face au jeûne, permet de déterminer le statut de condition des individus. Les organes qui apparaissent comme les plus utilisés dans les études s'avèrent être ceux liés à la digestion, soit le tube digestif et les glandes associées (foie et pancréas).

Le foie est souvent utilisé comme organe indicateur de l'état nutritionnel et physiologique des poissons (e.g Deplano et al., 1991; O'Connell, 1981; Segner et al., 1994; Theilacker, 1986) car il est considéré comme prédominant dans le métabolisme et dans le stockage des réserves de glycogène, des lipides et dans les processus de digestion et de détoxification (Zambonino-Infante et al., 2008). En bonne condition, la structure du foie est lamellaire avec de nombreuses vacuoles lipidiques et de glycogène tandis que le foie des larves en état de dénutrition ne présente plus de structures de réserves et est disloqué avec moins d'arrangements cellulaires et plus de larges espaces intercellulaires.

Le pancréas possède des fonctions endocrines et exocrines. Le pancréas exocrine (production d'enzymes digestives) est différencié histologiquement à l'éclosion de la larve et se caractérise par des cellules en acini (Zambonino-Infante et

al., 2008). Le pancréas dans des conditions favorables présente des structures en acini symétriques et distinctes. Les cellules sont arrangées autour d'une lumière intercellulaire centrale. En période de dénutrition, le pancréas ne présente plus ces structures en acini (e.g Boulhic, 1991; Crespo et al., 2001; Diaz et al., 2013; Sieg, 1992; Theilacker, 1978).

Le tube digestif a pour rôle de réduire la nourriture absorbée en molécules pouvant traverser le tissu épithélial et être transportées dans le sang. Il se compose essentiellement de l'œsophage, de l'intestin moyen et de l'intestin postérieur. L'estomac fait également partie du tube digestif mais n'est pas présent chez toutes les espèces dès le début de l'alimentation, et peut être fonctionnel seulement après la métamorphose, voire jamais chez d'autres espèces (Rønnestad et al., 2013). Les principales réponses au jeûne se traduisent par un aplatissement des cellules épithéliales qui peuvent également présenter des espaces intercellulaires ; la paroi intestinale présente alors une moins bonne cohésion (e.g Green et McCornick, 1999; Rodríguez et al., 2005; Theilacker, 1995; Theilacker et Watanabe, 1989).

Ces trois organes sont connus pour répondre rapidement, de l'ordre de 24 heures, à une absence d'alimentation (Diaz et al., 2013). D'autres organes ou tissus comme les muscles, le système nerveux ou la notochorde peuvent également renseigner sur l'état des larves (Catalán et al., 2015; O'Connell, 1976). Cependant, ces organes ne présentent de changements histologiques que seulement après un jeûne très prolongé (Diaz et al., 2013 ; Kashuba et Matthews, 1984 ; O'Connell, 1976 ; Theilacker, 1986). Ils ne seront pas étudiés dans cette thèse.

Tous les organes ne réagissent donc pas de la même manière et dans la même proportion face à la dénutrition. Seuls les organes qui montrent des

changements et qui définissent clairement différents statuts de condition larvaire peuvent être utilisés pour différencier les larves nourries de celles en état de dénutrition récent ou avancé (Diaz et al., 2013 ; Sieg, 1998). Ainsi, des études en milieux contrôlés sont nécessaires pour calibrer les différentes conditions nutritionnelles. Cependant, bien qu'il existe quelques différences spécifiques, la grande majorité des changements histologiques des organes cibles pendant une période de jeûne seraient communs à toutes les espèces et indépendants de la taille, du stade et de la température (Ferron et Leggett, 1994 ; Kashuba et Matthews, 1984 ; McFadzen et al., 1997 ; O'Connell, 1976 ; Oozeki et al., 1989 ; Sieg, 1998 ; Theilacker, 1978, 1986 ; Yúfera et al., 1993).

3.2 Indices biochimiques

Les indices biochimiques sont des indices indirects de la condition physiologique au niveau cellulaire. A l'échelle de la cellule, la condition d'un individu est liée à la quantité de réserves énergétiques disponibles pour l'organisme (Ferron et Leggett, 1994; Giraldo, 2012). Ces réserves énergétiques peuvent être divisées en trois catégories (Frolov et Pankov, 1992) :

- 1- Les substances rapidement et facilement mobilisées en début de jeûne,
- 2- Les substances de réserve énergétique,
- 3- Les molécules mobilisées suite à un jeûne avancé, engendrant une réorganisation métabolique importante.

Pour les poissons, des petites molécules comme le glucose ou les aminoacides libres appartiennent à la première catégorie. Des molécules plus grandes comme le glycogène, les lipides et les protéines solubles de petite taille entrent dans la deuxième catégorie, et certains lipides et grandes protéines de

structure non solubles dans la troisième (Ferron et Leggett, 1994; Giraldo, 2012; Love, 1970).

Ainsi la condition biochimique des larves de poissons peut être obtenue par quantification des constituants utilisés comme énergie (lipides) ou en mesurant les indicateurs physiologiques (e.g protéines, acides nucléiques) connus pour varier en fonction du statut nutritionnel. Ils renseignent sur la quantité de réserves énergétiques disponibles ou bien sur le taux de croissance journalier des larves.

3.2.1 Acides nucléiques : l'indice ARN:ADN et de croissance instantanée

La croissance des larves de poissons est réalisée par la synthèse protéique, via la transcription de l'ADN en ARN, et traduction de l'ARN en protéines. L'ADN portant l'information génétique des cellules est présente dans les noyaux en quantité relativement stable, traduisant ainsi un nombre de cellules. A contrario, l'ARN se retrouve en quantité très variable au sein des cellules, proportionnellement au niveau de synthèse protéique (Clemmesen, 1994).

Bulow (1970) proposa en premier d'utiliser le rapport ARN/ADN afin d'évaluer le taux de croissance des jeunes stades de poissons. Quelques années plus tard, ce sont les travaux de Buckley (1979) sur la morue qui ont montré une corrélation négative entre le ratio ARN/ADN et le niveau de jeûne, définissant ainsi le rapport comme indice de condition larvaire, ce qui a été ensuite confirmé par Clemmesen (1987) grâce à ses travaux sur le hareng et le turbot.

Ainsi, le rapport ARN/ADN (RD) fournit une valeur de la capacité de synthèse cellulaire, corrélée au statut nutritionnel de la larve (Buckley et al., 1999, 2008; Ferron et Leggett, 1994). Plusieurs études ont montré que le RD décroît après seulement un jour de jeûne et qu'il a une bonne corrélation avec les taux de croissance sur des périodes allant jusqu'à environ une semaine (Buckley et al., 1999;

Caldarone, 2005; Clemmesen, 1994). Ce court temps de réponse permet de lier les conditions environnementales au moment de l'échantillonnage, à la variabilité de croissance et de survie des cohortes larvaires. Ainsi le RD est largement utilisé comme indice du statut nutritionnel des poissons (e.g Buckley et al., 1999; Clemmesen et al., 1998; Denis et al., 2017; John et al., 2001; Yandi et Altinok, 2018). Cependant, la détermination du taux de croissance à partir du RD requiert des ajustements en laboratoire. En effet, le taux de protéines synthétisées par unité d'ARN est dépendant de la température (Millward et al., 1973), les poissons vivants dans de relatives hautes températures ayant un meilleur taux de croissance par valeur de RD (Caldarone et al., 2003; Folkvord et al., 1996). Il en va de même pour la taille où des études en laboratoire et en milieu naturel ont montré que suite à l'initiation de la nutrition exogène, le taux de croissance est taille-dépendent, avec des phases de croissances rapide et d'autres plus graduelles (Buckley et al., 2006; Otterlei et al., 1999). Un modèle général a été publiée par Buckley et al. (2008). Les auteurs ont ainsi proposé un nouvel indice permettant de corriger l'effet de la température sur le RD. Il s'agit de l'indice de croissance instantanée (G_i , jours⁻¹).

Bien que de nombreuses études ont démontré la relation de causalité existant entre condition et taux de croissance (e.g Buckley, 1979; Buckley et al., 1999; Caldarone, 2005; Clemmesen, 1994; Diaz et al., 2018; Foley et al., 2016), les variations observables du RD peuvent également refléter des stratégies spécifiques ou ontogéniques. En effet, les larves peuvent compenser des périodes prolongées de privation alimentaire, soit en catabolisant les réserves énergétiques des tissus hépatiques (Meyer et al., 2012), soit inversement en les anabolisant en prévention d'une période de jeûne (e.g métamorphose), avec pour conséquence une diminution

du taux de croissance (Denis et al., 2017 ; Ehrlich, 1974a, 1974b ; Giraldo et al., 2016).

3.2.2 Indices lipidiques

Au sein d'un organisme, les lipides rentrent principalement en jeu en tant que substances constitutives des matrices membranaires, cofacteurs enzymatiques et substances de réserves énergétiques (Dawidowicz, 1987 ; Tocher et Sargent, 1984). Les lipides du règne animal peuvent être classés en deux grands groupes, selon leur charge électrique, neutre ou polaire. Les lipides polaires, ou phospholipides (PL), sont principalement représentés par la phosphatidylcholine et la phosphatidylethanolamine tandis que les lipides neutres (LN) sont surtout représentés par les triglycérides (TAG) et le cholestérol (Chol) (Tocher, 2003). On retrouve ainsi des lipides ayant un rôle de constituants membranaires (PL et Chol) tandis que d'autres joueront un rôle de réserves énergétiques (TAG).

Chez les larves de poissons, lorsque l'énergie dérivée de la nutrition exogène dépasse les besoins métaboliques immédiats, l'excès d'énergie est principalement stocké sous forme de TAG (Ackman, 1989 ; Sargent et Whittle, 1981). Durant le jeûne, les larves de poissons connaissent une baisse générale et rapide des réserves lipidiques, faisant de ce groupe de composés un indicateur de la condition nutritionnelle larvaire (Costalago et al., 2014 ; Giraldo et al., 2011 ; Peters et al., 2015 ; Rainuzzo et al., 1997). Alors que les TAG sont rapidement catabolisés durant une période de jeûne, les lipides membranaires tels que le cholestérol restent constants et en quantité proportionnelle à la taille (Håkanson, 1989 ; Tocher et al., 1985). C'est sur ce principe que Fraser (1989) développa l'indice TAG:Chol pour mettre en évidence la quantité de réserves disponibles et évaluer le statut nutritionnel des jeunes stades de développement des poissons (Costalago et al., 2011; Giraldo et al.,

2012; Suthers, 1992). Le rapport TAG:Chol peut ainsi refléter la capacité des larves à résister à une absence de sources trophiques, avec les individus ayant une valeur élevée qui auraient une plus grande tolérance face au jeûne.

4 Problématique et objectifs

En tant que facteur de déterminisme du recrutement, l'étude du succès de survie des larves poissons a pris, depuis les travaux de Hjort (1914), une importance cruciale pour la compréhension des variations de la dynamique des populations. La nutrition et les conséquences du jeûne des larves sont désormais largement acceptées comme des sources majeures de variabilité dans la survie (Houde, 1987), expliquant que le nombre de descendants recrutés dans la population adulte est non proportionnel à la biomasse des reproducteurs. C'est dans ce contexte que le projet de cette thèse s'inscrit afin d'améliorer, au moyen d'une approche multi-spécifique et multi-échelles, les connaissances sur la condition nutritionnelle et physiologique des larves de poissons au sein des assemblages.

L'objectif est donc d'étudier les phases sensibles du développement des poissons pour :

(1) différentes espèces clés de l'Atlantique nord-est qui possèdent des stratégies différentes de vie et de reproduction : le sprat (*Sprattus sprattus*) en tant qu'espèce pélagique, le merlan (*Merlangius merlangus*) comme espèce démersale et la sole (*Solea solea*) et la plie (*Pleuronectes platessa*) comme poissons plats.

(2) différentes zones de Manche et mer du Nord selon un gradient côte-large au niveau des estuaires de la Somme, l'Authie, la Canche, et face au dunkerquois.

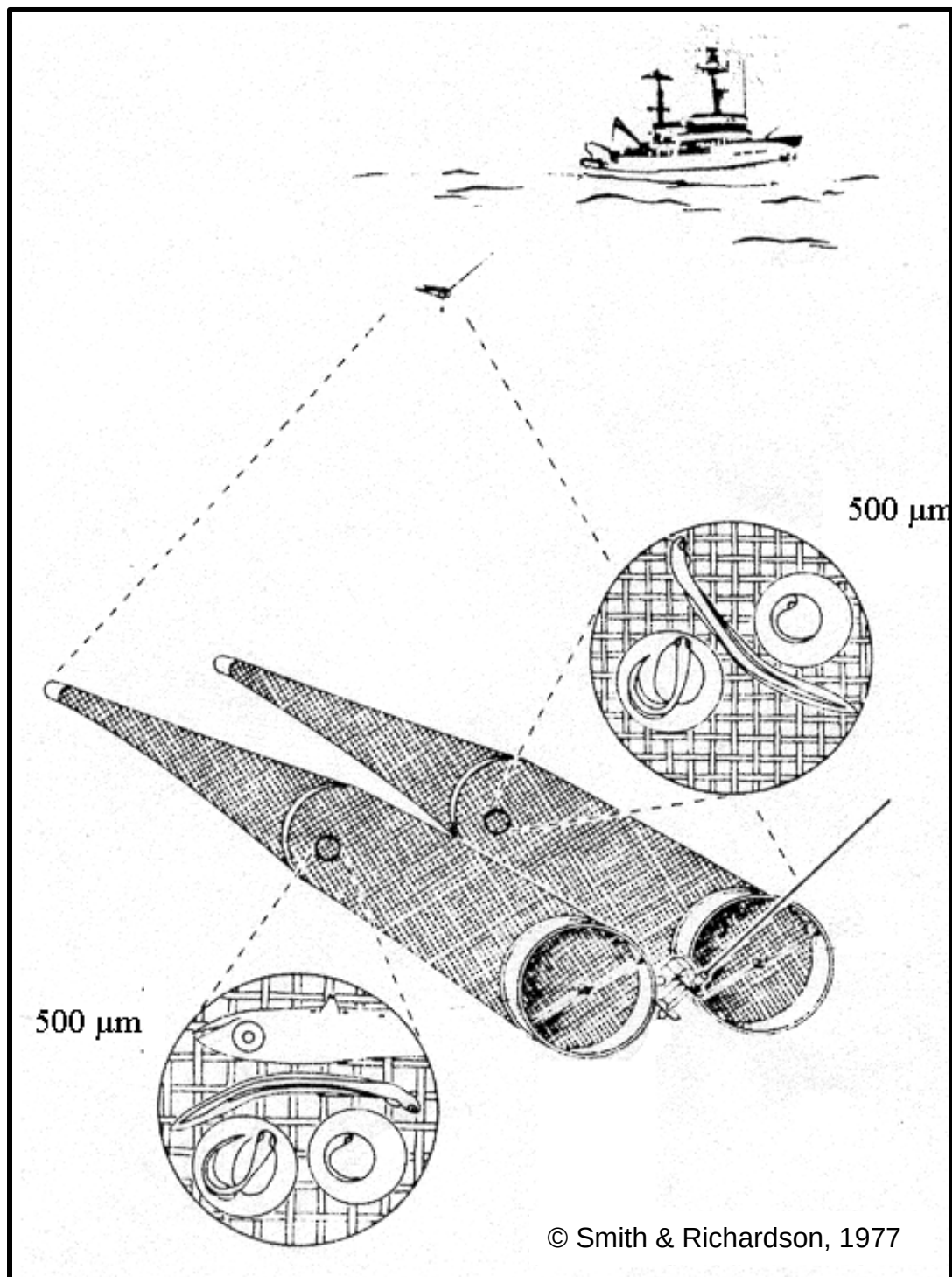
(3) différentes saisons, principalement au printemps et en hiver en considérant le calendrier larvaire des espèces citées ci-dessus.

Les méthodologies employées pour estimer la condition larvaire seront basées sur des méthodes indirectes comme la biochimie (classes lipidiques et taux de croissance) et l'histologie. Ces indices permettront de déterminer la condition larvaire suivant les secteurs, les saisons ou les stades de développement. Ils permettront d'évaluer la proportion de larves en condition de jeûne sévère ou en "point de non-retour" entraînant leur mortalité.

Dans cette étude, après avoir précisé la méthodologie d'échantillonnage en mer et d'analyse en laboratoire (chapitre 1), les assemblages larvaires rencontrés dans la zone d'étude seront étudiés dans le chapitre 2.1. Pour cela, les données d'abondances et de répartitions des larves issues de campagnes océanographiques réalisées durant cette thèse seront utilisées. Dans le chapitre 2.2, les assemblages rencontrés durant le printemps 2017 seront comparés aux données d'assemblages obtenues dans les années 1990 afin d'étudier de potentielles différences d'abondances et de compositions larvaires. Dans le chapitre 3.1, la condition larvaire de la sole observée il y a 20 ans grâce à de précédents travaux (Grioche, 1998) sera comparée à celle observée en 2017. Le but sera de définir les zones favorables à une bonne condition et de voir si celles-ci diffèrent entre les deux périodes. Dans le chapitre 3.2, une nouvelle méthode d'évaluation de la condition histologique sera présentée. Cette nouvelle méthodologie a été développée de manière à être adaptée aux études *in situ*. Grâce à ce nouvel indice et aux indices de croissance, la condition larvaire de plusieurs espèces de poissons, ayant des stratégies de vie différentes, sera étudiée et comparée à différentes échelles spatiales et temporelles dans le chapitre 4. Cette étude se focalisera sur la période critique de la première alimentation et permettra de mettre en évidence les différences interspécifiques des préférences environnementales en termes de croissance et de statut nutritionnel. Les

variations de statut nutritionnel et de stratégie d'allocation de l'énergie seront également étudiées au cours de l'ontogénie en combinant plusieurs indices dans le chapitre 5.

Chapitre 1 : Matériels et méthodes



1 Stratégies d'échantillonnage

1.1 Campagnes océanographiques

Les espèces échantillonnées (sole, sprat, merlan et plie) ont été sélectionnées pour leurs différents traits d'histoire de vie (morphotype, éthologique et écologique). Elles ont des calendriers larvaires différents avec une phase larvaire hivernale pour la plie et printannière pour les autres espèces. Durant l'année 2017, cinq campagnes océanographiques ont été conduites de janvier à juin, représentant près de 50 jours en mer et plus de 200 stations échantillonnées en MO et BSMN (Tableau 1).

Tableau 1 | Date et durée des différentes campagnes d'acquisition des données. Les navires ont été précisés (CDLM: Côte de la Manche) ainsi que les engins de pêche (MIK: Midwater Ringnet), le nombre de stations et les espèces ciblées.

Campagne		IBTS	REIVE 1		PHYCO	REIVE 2		IGA
Date	Début	20/01/2017	23/03/2017		21/04/2017	05/05/2017		Voir Tableau 3
	Fin	10/02/2017	31/03/2017		30/04/2017	13/05/2017		
Navire		Thalassa	CDLM		CDLM	CDLM		
Engin(s)		MIK	Bongo	Traineau	Bongo	Bongo	Traineau	Bongo
Nombre d'échantillonnage ichtyo.		103	26	20	27	26	22	28
Espèces cibles		Plie	Sole Merlan Sprat					

1.1.1 Campagne hivernale | IBTS

Les campagnes IBTS (International Bottom Trawl Survey) sont biannuelles (janvier-février et août-septembre) et pérennes depuis 1980. Elles ont pour vocation le calcul d'indices d'abondances d'espèces de poissons d'intérêt commercial tels que le hareng. Coordonnées par le CIEM (Conseil International pour l'Exploration de la Mer), huit pays sont impliqués dans ces évaluations dont la France qui est chargée

de la campagne d'hiver en MO et dans la BSMN à bord du N/O Le "Thalassa" (Figure 4).

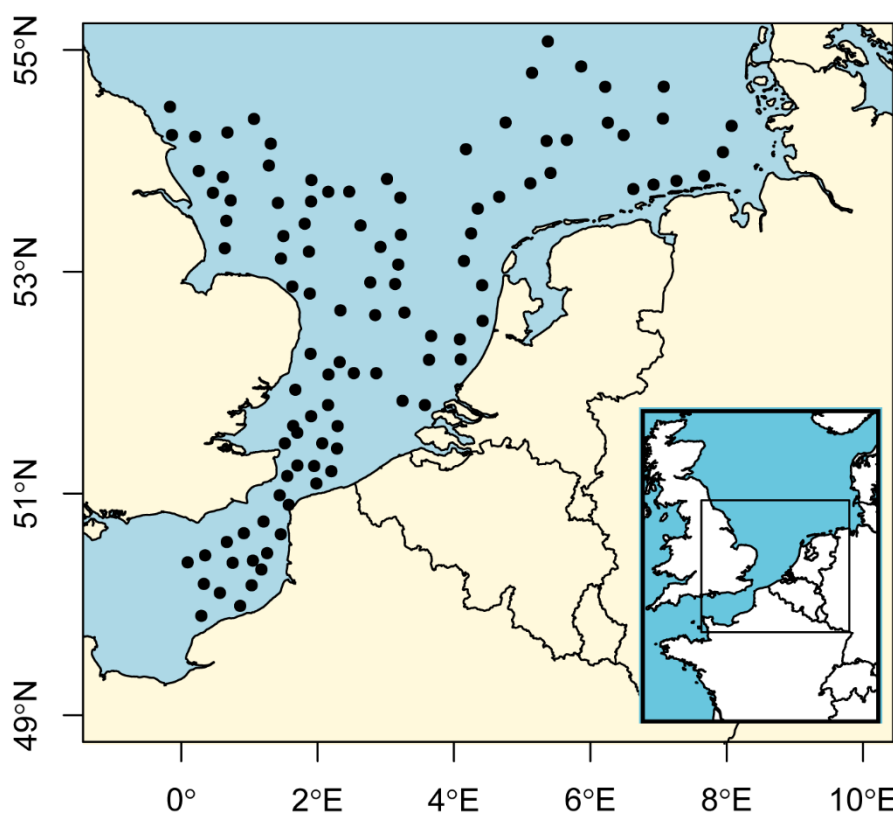


Figure 4 | Stations d'échantillonnage réalisées durant la campagne IBTS 2017

Outre l'estimation des stocks adultes, ces campagnes servent à étudier l'ichtyofaune dont l'ichtyoplancton (œufs et larves de poissons), le plancton et les invertébrés benthiques. La méthodologie concernant l'ichtyoplancton consiste en un échantillonnage nocturne (compris entre une heure après le coucher du soleil jusqu'à une heure avant son lever). Spatialement, la zone d'étude est divisée en rectangles de 0,5° de latitude sur 1° de longitude dans lesquels l'échantillonnage est aléatoire.

La campagne de 2017 s'est déroulée du 20 Janvier au 10 Février et l'ichtyoplancton a été échantillonné au niveau de 103 stations. Cette campagne a permis la collecte des larves de plie en tant qu'espèce à reproduction hivernale.

1.1.2 Campagnes printanières

Plusieurs campagnes d'échantillonnage de l'ichtyoplancton ont été réalisées entre les années 93 et 99 (Tableau 2) en MO (Carpentier et al. (2009) et cf. chapitre 2.2). Trois nouvelles campagnes ont été programmées durant le printemps 2017.

1.1.2.1 Campagnes des années 1990

Au cours des années 1990 plusieurs campagnes printanières ont été réalisées à différentes échelles spatiales le long des côtes françaises et anglaises de MO avec quelques prélèvements dans la BSMN (Tableau 2; Figure 5). Ces campagnes pouvaient se limiter à une simple radiale visitée mensuellement au printemps en face de Wimereux (campagnes SIPMOs, Grioche et al, 1997) ou bien plusieurs radiales côte-large le long de la Côte d'Opale (campagnes SIPCOs). Les campagnes REISE 1 et REISE 2 en 1995 sont celles qui ont couvert la plus grande zone avec un échantillonnage s'étendant du Pays de Caux à l'estuaire de l'Escaut (Grioche et al., 1999). En plus d'un suivi ichtyoplanctonique, ces deux dernières campagnes ont permis d'étudier la condition des larves de sole par une approche histologique (Grioche, 1998). Enfin, en 1999, la dernière campagne « BCD » (Koubbi et al., 2006) s'est concentrée au niveau du détroit du Pas de Calais tant du côté français que du côté anglais et dans la baie de la Tamise. Un atlas des données issues de ces campagnes a été publié dans le cadre des projets INTERREG-CHARM (Carpentier et al., 2009).

Tableau 2 | Dates de début et de fin des campagnes ichthyoplanctonologiques réalisées dans les années 1990 et utilisées dans la présente thèse. Le nombre de stations échantillonnées au filet bongo a été précisé.

Campagne	Début	Fin	Nombre de stations bongo
SIPMO 4	01/04/1993	01/04/1993	8
SIPMO 5	14/05/1993	14/05/1993	8
SIPMO 6	25/06/1993	25/06/1993	8
SIPCOI	28/04/1994	29/04/1994	21
SIPCOII	27/05/1994	31/05/1994	20
SIPCOIII	23/06/1994	27/06/1994	21
REISEI	11/04/1995	13/04/1995	45
REISEII	02/05/1995	04/05/1995	48
SIPCOIV	24/05/1995	26/05/1995	21
BCD	27/04/1999	01/05/1999	32

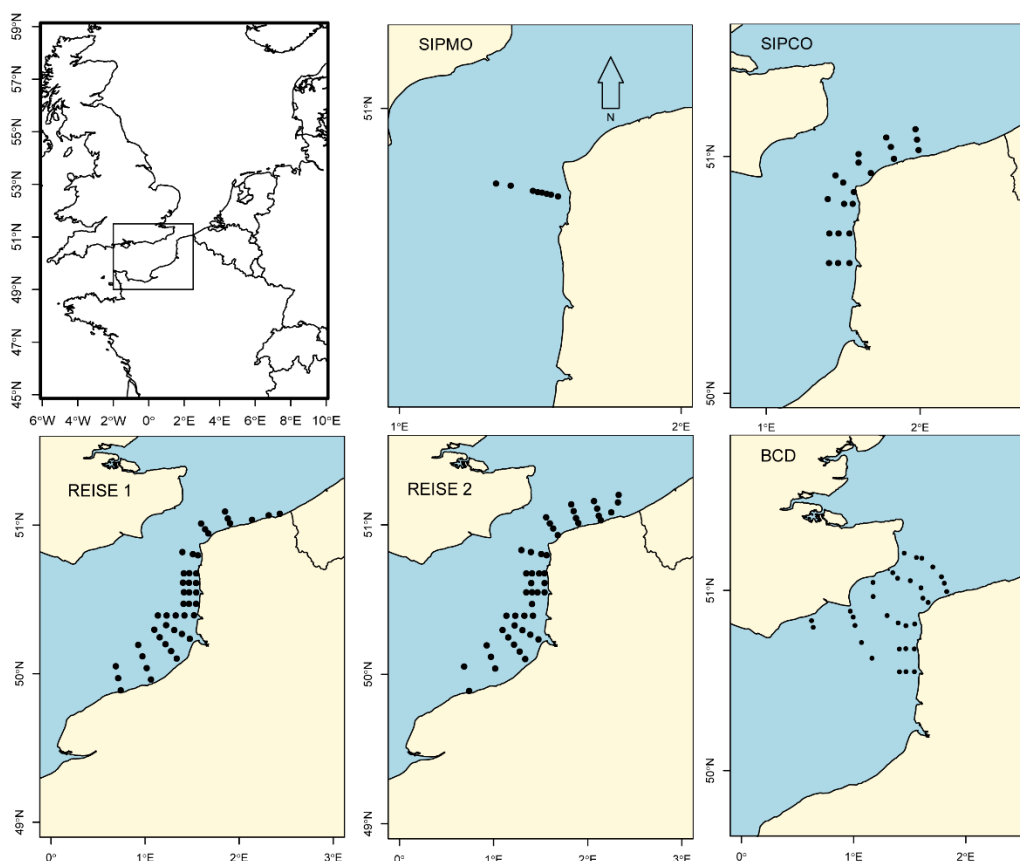


Figure 5 | Localisation des stations échantillonnées durant les campagnes présentées dans le Tableau 2.

1.1.2.2 Campagnes de 2017

Plusieurs campagnes ont été programmées dans le cadre de cette thèse.

- REIVE

Les campagnes REIVE (Répartition de l'Ecophase Ichtyoplanctonique de la Baie des Veys à l'Escaut) ont été réalisées dans le cadre du projet SMAC (Sole de Manche est : Amélioration des Connaissances pour une meilleure gestion du stock). Deux legs de huit jours, fin mars et début mai, ont été réalisés à bord du N/O le "Côte de la Manche". L'échantillonnage a été réalisé de jour selon plusieurs radiales côte-large en face des principaux estuaires (Seine, Somme, Authie et Canche) (Figure 6).

Ces campagnes visaient à répondre à plusieurs problématiques sur la distribution de l'ichtyoplancton et des conditions des larves de quelques espèces de poissons afin de :

- préciser les assemblages ichtyoplanctoniques et les zones de concentration des larves des principales espèces de poissons rencontrées,
- comparer les niveaux d'abondances des larves entre les deux legs et avec les échantillonnages des années 90,
- évaluer la condition larvaire des principales espèces rencontrées à l'aide de plusieurs techniques (biochimie, histologie),
- comparer les conditions de la sole entre les années 90 et 2017.

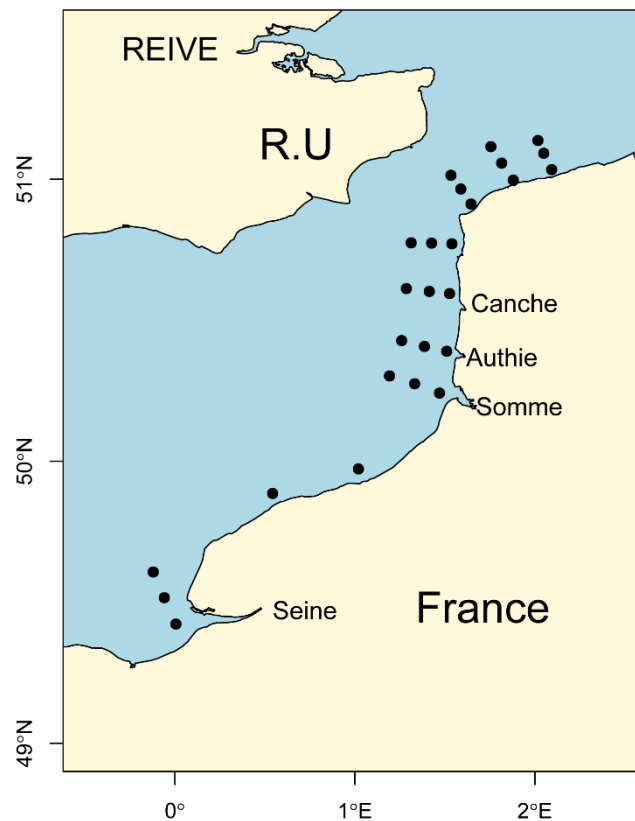


Figure 6 | Localisation des stations échantillonnées durant les campagnes REIVEs.

- PHYCO

La campagne PHYCO (PHYtoplakton COmmunities) était initialement destinée à la caractérisation du compartiment phytoplanctonique le long des côtes françaises et anglaises en MO (Artigas, comm. pers.). Il a été proposé d'ajouter le compartiment zooplanctonique dont l'ichtyoplancton. L'intérêt de cette campagne qui s'est déroulée du 21 au 30 avril 2017 était de compléter les observations d'abondances et de conditions larvaires en MO durant le printemps. En effet, cette campagne a eu lieu entre les deux legs des campagnes REIVE. Plusieurs stations d'échantillonnage étaient identiques entre REIVE et PHYCO (Figure 7).

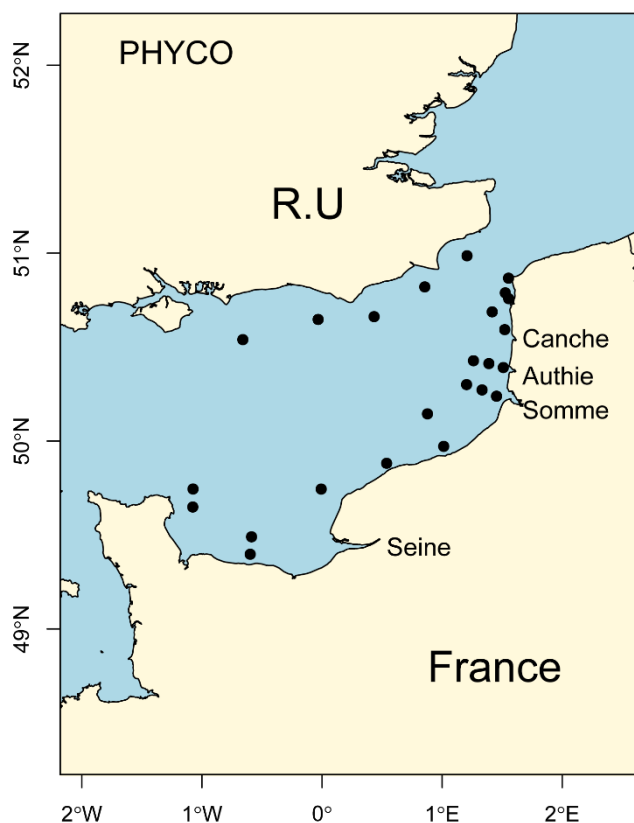


Figure 7 | Localisation des stations échantillonnées durant la campagne PHYCO.

Ce programme prévoyait également plusieurs points de prélèvements le long des côtes anglaises. La méthodologie pour la campagne PHYCO a été la même que pour REIVE.

- IGA

Le programme IGA (Impact des Grands Aménagements) a pour objectif le suivi environnemental des centrales nucléaires, notamment Penly et Gravelines qui se trouvent dans notre zone d'étude. Plusieurs stations de référence ont été définies au niveau de chaque centrale. En 2017, des échantillonnages bimensuels ont été réalisés entre Mars et Juin (Tableau 3 ; Figure 8). Chaque sortie en mer était réalisée de jour à marée haute, à bord de navires affrétés pour ces études (bateaux de

pêche). Les espèces cibles sont celles à développement larvaire printanier, soit le sprat, le merlan et la sole.

Tableau 3 | Dates de sorties en mer des prélèvements IGA

IGA					
Gravelines			Penly		
Sortie	Code	Date	Sortie	Code	Date
G1	362	14/03/2017	P1	173	03/04/2017
G2	363	27/03/2017	P2	174	20/04/2017
G3	364	12/04/2017	P3	175	02/05/2017
G4	365	24/04/2017	P4	176	17/05/2017
G5	366	10/05/2017			
G6	367	23/05/2017			
G7	368	22/06/2017			

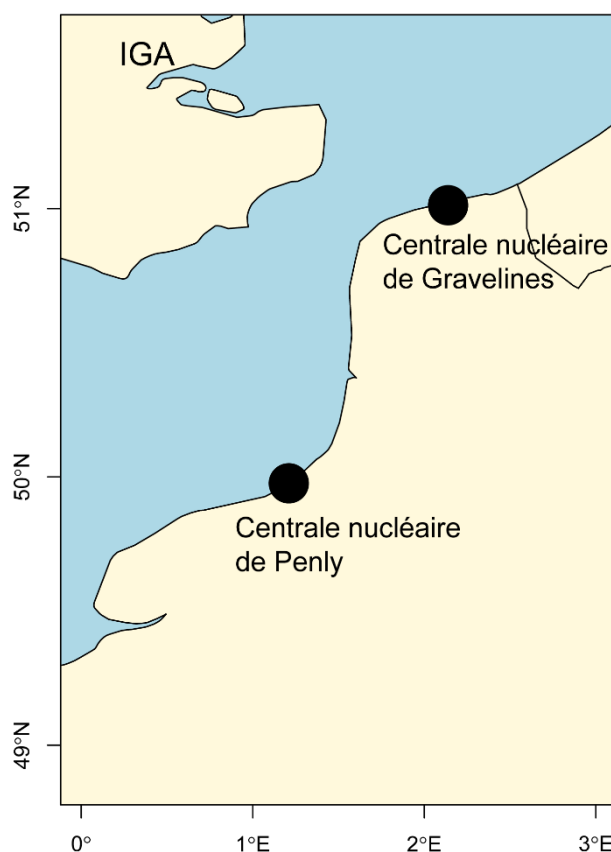


Figure 8 | Zones d'échantillonnage du programme IGA.

1.2 Opérations à la mer

1.2.1 Prélèvement de l'ichtyoplancton

Suivant les campagnes, différents types d'engins de prélèvement de l'ichtyoplancton ont été utilisés (Figure 9). Lors des missions de 2017 à bord des navires de la flotte océanographique, tous les engins de pêche étaient équipés d'un dispositif d'estimation de la profondeur (ScanMar SS4 DepthSensor) et d'un

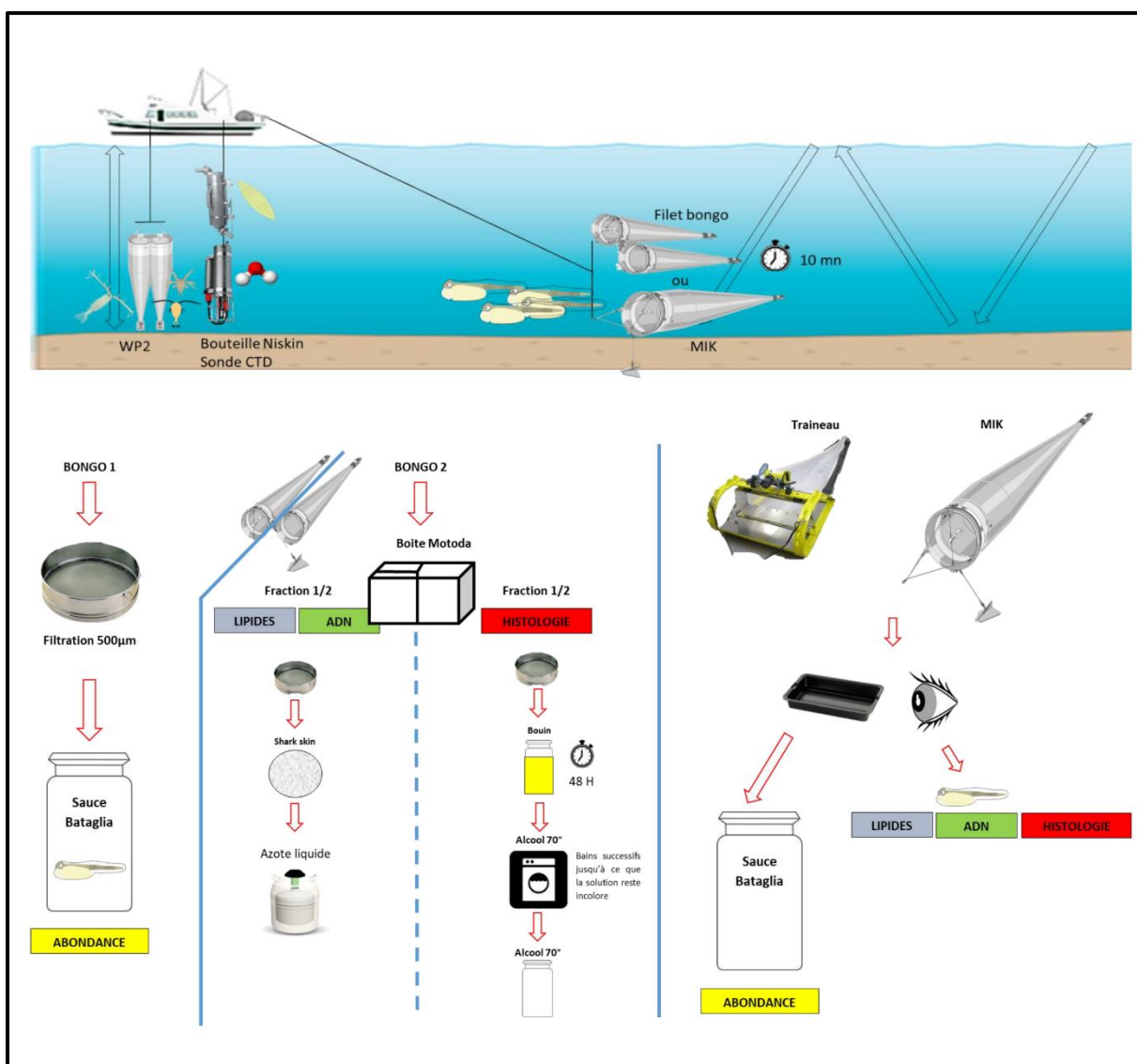


Figure 9 | Schéma du protocole d'échantillonnage aux stations et de traitement des échantillons des différents types de filets.

volucompteur afin de calculer le volume d'eau filtré.

1.2.1.1 Le MIK (Midwater Ringnet)

Le filet MIK (Figure 10) est composé d'une ouverture circulaire de deux mètres de diamètre et d'un filet conique de trois mètres de long avec un maillage de 500µm. Les pêches effectuées à l'aide du MIK, se sont toutes déroulées de nuit à une vitesse de trois nœuds pendant environ dix minutes. Au moins deux stations ont été échantillonnées dans chaque rectangle statistique du programme IBTS. un ou plusieurs traits obliques (surface-fond-surface) ont été réalisés à chaque échantillonnage jusqu'à trois à cinq mètres au-dessus du fond.

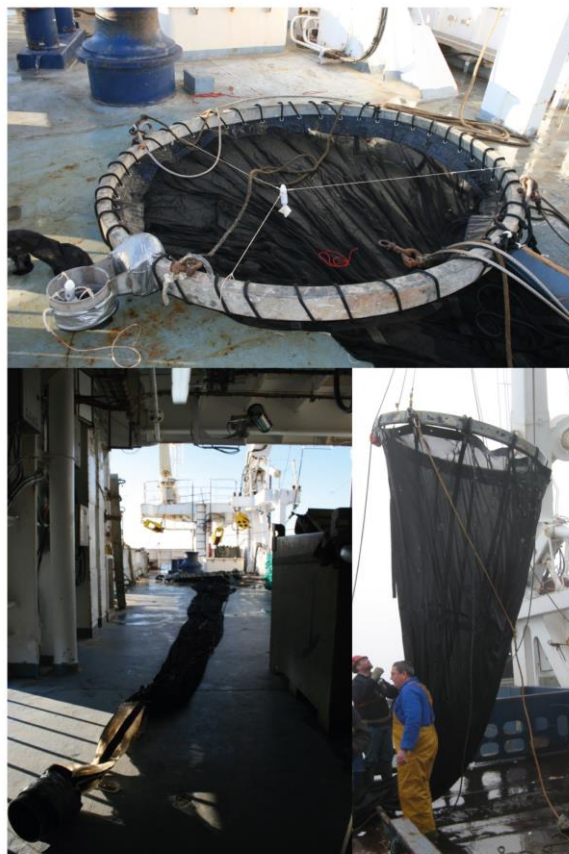


Figure 10 | Filet MIK utilisé durant la campagne IBTS.

1.2.1.2 Le Bongo

Pour les campagnes printanières (2017 et années 90), les larves de poissons ont été principalement prélevées via un double collecteur Bongo (Figure 11 ; Smith et Richardson, 1977). Cet engin est composé de deux anneaux de 60cm de diamètre, équipés chacun d'un filet de deux mètres de maillage 500 μ m. A chaque station, la vitesse du bateau était d'environ de deux nœuds. La vitesse de filage était de 0,75 m.s⁻¹ jusqu'à atteindre la profondeur de trois à cinq mètres au-dessus du fond. A la profondeur maximale atteinte, le bongo était stabilisé pendant 30 secondes. La vitesse du virage était d'environ 0,5 m.s⁻¹ jusqu'à la surface.

Le filet était descendu entre la surface et le fond autant de fois que nécessaire jusqu'à obtenir une durée totale de prélèvement d'environ 10 minutes.



Figure 11 | Filet Bongo utilisé durant les campagnes printanières.

1.2.1.3 Le traîneau épibenthique

Pour la campagne REIVE, un traîneau épibenthique a été utilisé afin d'échantillonner les larves de poissons plus âgées lors de leur passage à un mode de vie benthique. Le traîneau était muni d'un système automatique permettant son ouverture lorsqu'il touchait le fond et d'un filet à maillage 500µm. Le temps de pêche sur le fond était de 10 minutes avec une vitesse de deux nœuds. Quelques larves ont été prélevées pour compléter le nombre d'individus pour l'étude de la condition larvaire.

1.2.1.4 Conditionnement des échantillons

Le bongo étant équipé de deux filets, le collecteur 1 a été dédié à l'évaluation de l'abondance larvaire en fixant l'essentiel de son contenu en solution formolée (sauce Bataglia). Le collecteur 2 fut destiné aux analyses de condition larvaire. Chaque échantillon issu du collecteur 2 a été divisé en deux à l'aide d'une boîte Motoda. Après filtration, la première moitié était conditionnée dans une solution de Bouin (fixateur histologique) tandis que l'autre moitié a été étalée sur un filtre « shark skin » avant d'être congelée en azote liquide. Dans les deux cas, l'eau salée était scrupuleusement retirée.

Pour le MIK et le traîneau, la présence d'un unique collecteur a conduit à une approche différente. Les larves de plie ont été récoltées à vue et les tailles échantillonnées au hasard. Selon la disponibilité, jusqu'à 30 individus ont été isolés pour chaque type d'analyse. Une partie des larves furent fixées dans une solution de Bouin pour l'histologie tandis que d'autres furent rapidement congelées en azote liquide. Le reste de l'échantillon fut ensuite fixé en solution formolée (sauce Bataglia).

1.2.2 Mésozooplancton

Pour toutes les campagnes, le mésozooplancton fut prélevé verticalement avec un double WP2 de la surface jusqu'à atteindre la profondeur de trois à cinq mètres au-dessus du fond. Les vitesses de filage et de virage étaient de 0,75 m.s⁻¹. Chaque filet possédait une maille de 200µm et était équipé d'un volucompteur. Le contenu de chaque collecteur était ensuite filtré sur un tamis 200µm. Le collecteur 1 était conditionné en solution formolée pour les abondances, alors que le collecteur 2 était destiné à des analyses ne rentrant pas dans le cadre de cette étude.

1.2.3 Paramètres hybrobiologiques

Les paramètres physico-chimiques et biotiques de la colonne d'eau ont été mesurés à chaque station mis à part pour le programme IGA. Une sonde CTD SeaBird 2.0 (Conductivité Température Densité) mesurait en continu sur toute la colonne d'eau la température, la salinité, le pH, l'oxygène dissous ainsi que la fluorescence. Seules les valeurs enregistrées au cours de la descente ont été conservées. Une bouteille Niskin permettant la récolte de 5 litres d'eau à 1 mètre de profondeur, permettant le dosage de la chlorophylle a, des phéopigments, de la MES, des matières minérales et organiques et de plusieurs sels nutritifs (i.e NH₄⁺, PO₄, NO₃, NO₂ et SiOH). Ces mesures n'ont pas été effectuées durant toutes les campagnes (cf. chapitre 2.1).

2 Méthodologie de laboratoire

2.1 Tri et identification

2.1.1 Mésozooplancton

Les échantillons formolés issus du WP2 ont été identifiés via l'utilisation d'un ZooScan (Gorsky et al., 2010). Dans un premier temps, les échantillons étaient

séparés en deux classes de tailles ($>500\mu\text{m}$ et $200-500\mu\text{m}$). Chaque fraction était ensuite fractionnée avec une boîte de Motoda jusqu'à obtention d'un sous échantillon contenant entre 1000 et 2000 individus. Les sous échantillons étaient ensuite déposés dans une cellule de scanner et les individus étaient manuellement séparés les uns des autres. L'acquisition des images et leur analyse fut réalisée par le logiciel ViewScan. Elles ont ensuite été traitées par le plug-in ZooProcess installé sur le logiciel de traitement d'image IMAGEJ afin d'isoler chaque individu sur une vignette. Les vignettes étaient ensuite transférées sur le logiciel EcoTaxa qui, couplé à un fichier d'apprentissage, permettait l'identification des individus.

2.1.2 *Ichthyoplankton*

Toutes les larves capturées lors des différentes campagnes ont été identifiées sous loupe binoculaire au niveau de l'espèce ou du genre (taxon) selon Munk (2005) et Russell (1976). Pour les taxons très abondants (e.g sprat), l'échantillon a été fractionné à la boîte de Motoda de manière à obtenir entre 100 et 200 individus de l'espèce en question. Suivant les études, les stades de développement ont été identifiés selon Ryland (1966). Ainsi, selon la campagne, l'abondance de chaque espèce par station a été calculée par 100m^3 ou 1000m^3 d'eau filtrée.

Les stades de développement ont été déterminés pour chaque larve de plie, de merlan, de sprat ou de sole fixée en solution de Bouin. Les larves ont également été mesurées via un logiciel d'analyse d'image (IMAGEJ). Les échantillons congelés ont été décongelés juste avant les analyses biochimiques, permettant ainsi de mesurer les espèces cibles au millimètre inférieur et de leur attribuer un stade.

2.2 Condition larvaire

2.2.1 Histologie

Le protocole d'inclusion et de coloration a été adapté aux différentes espèces étudiées à partir des travaux de Boulhic (2001), Grioche (1998) et Martoja et Martoja-Pierson (1967). Le protocole détaillé est donné en annexe (Cf. Annexes)

Les larves de poissons échantillonnées ont été fixées durant 48 heures dans une solution de Bouin Hollande acétique. Le fixateur, en bloquant les réactions enzymatiques, permet une immobilisation des structures membranaires et tissulaires permettant leur observation au microscope photonique. Au terme des 48 heures d'exposition, les larves ont été abondamment rincées à l'alcool 70° puis stockées en attente de traitement dans ce même alcool. Seules les larves en parfait état de conservation ont été sélectionnées.

- **Déshydratation et inclusion**

Les larves ont été déshydratées par des bains d'alcool successifs de 10 minutes (répétés trois fois) de 70°, 95°, 100° afin d'éliminer les restes de fixateur. Les larves ont été rincées dans trois bains de 15 minutes de xylène, solvant miscible avec la paraffine. Les larves ont ensuite subi deux bains de paraffine en fusion (60°C) de deux heures chacun. Cette étape permet l'évaporation du solvant, qui va être remplacé par la paraffine qui imprègne ainsi l'ensemble des tissus. Les larves ont été incluses individuellement dans des blocs de paraffine. La paraffine va durcir et rigidifier les tissus, étape indispensable à la découpe fine de tissus initialement mous.

- **Découpe, étalement et collage des coupes**

Les larves ont été découpées dans le plan longitudinal à l'aide d'un microtome rotatif automatique par sections de 7µm d'épaisseur. Les coupes successives forment un ruban qui est ensuite découpé et étalé sur plusieurs lames. Les lames étaient posées sur une plaque chauffante à ~50°C, et recouverte d'une solution d'albumine à 1%. La température favorise l'étalement du ruban et l'albumine augmente le collage du ruban sur la lame. Les lames étaient ensuite mises à l'étuve environ 12 heures à 37°C pour faire évaporer les résidus d'eau albuminée.

- Coloration

Les lames ont été ensuite plongées dans trois bains de xylène de cinq minutes chacun afin de dissoudre la paraffine. L'étape suivante est une phase de réhydratation dans trois bains de chaque degré d'alcool (100°, 95° et 70°) et trois bains d'eau distillée ; chaque bain durant 5 minutes. Le premier colorant était l'hématoxyline de Groat (2 minutes) en tant que colorant nucléaire basique. Les lames étaient ensuite rincées abondamment à l'eau courante. Une fois rincées, les lames étaient plongées durant 15 secondes dans le deuxième colorant, le picro-indigocarmin, colorant cytoplasmique acide. Pour terminer, les lames ont été immergées dans trois bains successifs de 5 minutes chacun d'alcool absolu et dans un bain de xylène avant de monter la lamelle sur les coupes avec quelques gouttes de résine d'Eukitt.

- Lecture des lames

L'étude du niveau de jeûne a été faite par l'observation au microscope photonique du foie, du pancréas et du tube digestif (œsophage, intestin moyen et antéropostérieur ; Figure 12).

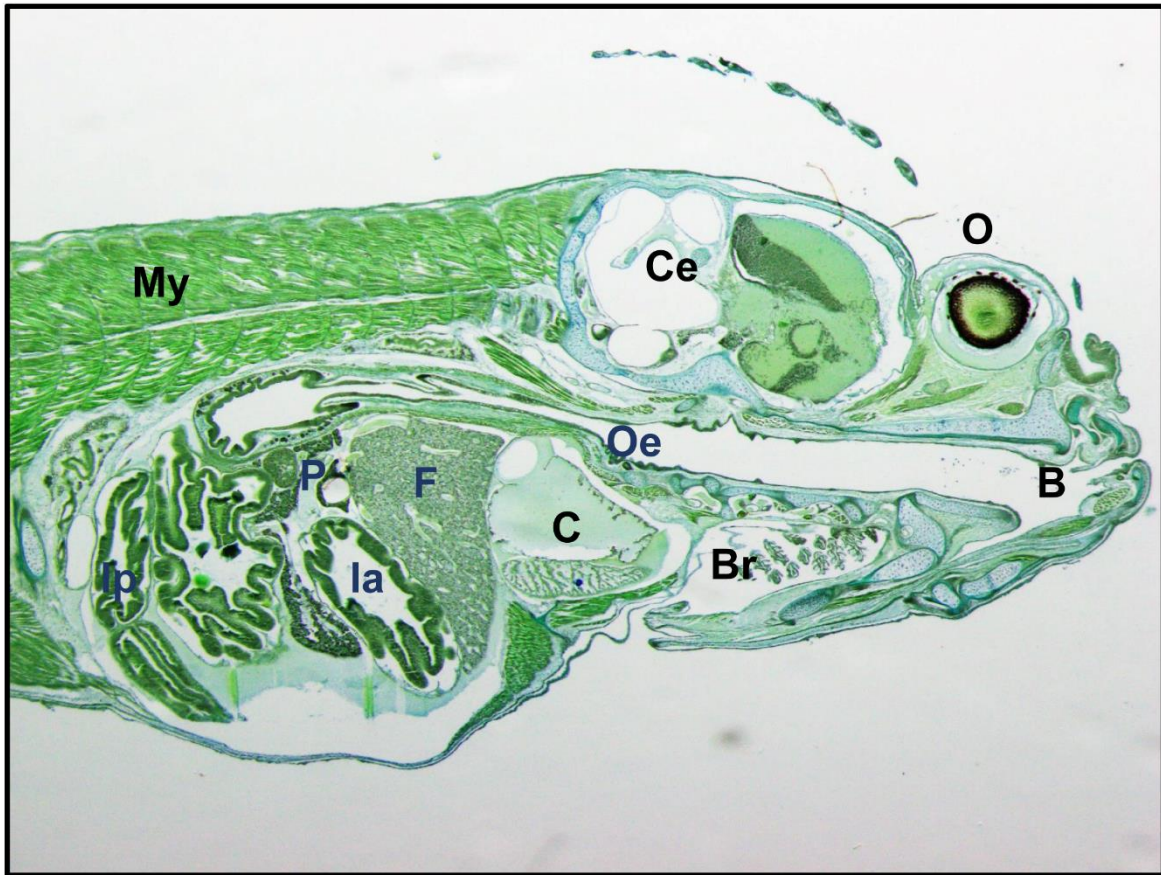


Figure 12 | Vue générale de la coupe histologique d'une larve de plie de stade 4. Les codes en bleu correspondent aux organes ciblés pour l'évaluation de la condition. B : Bouche ; Br : Branchies ; C : Cœur ; Ce : Cerveau ; F : Foie ; la : Intestin antéro moyen ; Ip : Intestin postérieur ; My ; Myomères ; O : Œil ; Oe : Oesophage ; P : Pancréas

Les lectures se sont faites de préférence sur des coupes à section médio sagittale pour chaque organe cible. Deux méthodes qualitatives ont permis d'évaluer les niveaux de jeûne des larves : la première utilisant les grades déterminés expérimentalement sur la sole par Boulhic (1991) et, la seconde, selon des critères

basés sur la notation de chaque organe (méthode définie au chapitre 3.2). Des exemples d'organes en bonne santé et dégradés sont donnés en annexe 1.

❖ Grades de Boulhic (1991)

Boulhic (1991) a mené des expériences de jeûne sur des larves de sole et a défini une échelle de gradation à partir de l'observation des différents organes digestifs. Cette méthode a été appliquée à différentes espèces issues d'échantillonnages *in situ* comme la sole (Grioche, 1998), *Pleuragramma antarctica* (Koubbi et al., 2007) et *Platichthys flesus* (Harlay, 2001).

L'échelle retenue pour ces différentes études comprend six grades (Boulhic, 1991) :

Grade n°6 : La larve est en bonne santé avec un bon état nutritionnel, les réserves dans le foie sont visibles. Présence de glycogène non seulement au niveau du foie, mais aussi au niveau des muscles. Les acinis du pancréas sont bien structurés et ont une forte quantité de zymogène. Cellules intestinales hautes.

Grade n°5 : La larve est en bonne santé. Les organes sont en bon état mais le foie présente moins de vacuoles indiquant de plus faibles réserves de glycogène. Des vacuoles sont présentes dans l'intestin.

Grade n°4 : Le début d'un jeûne est constaté. Un organe est altéré, souvent l'intestin postérieur. Il y a peu de vacuoles dans l'intestin.

Grade n°3 : Une dénutrition est observée car la larve est en jeûne avancé ou reprise alimentaire. Le tractus digestif et le foie sont altérés avec des espaces intercellulaires mais ils montrent quelques signes d'absorption. Dans le cas d'une réalimentation, après une phase de jeûne, on note la présence de cellules caliciformes dans l'œsophage.

Grade n°2 : On constate un jeûne sévère ; tous les organes cibles sont altérés comme le foie, le pancréas et le tube digestif. Il y a une très faible cohésion cellulaire. Les hépatocytes sont petits.

Grade n°1 : Dans ce cas, la larve est au point de non-retour. C'est une phase irréversible conduisant à la mort même en cas d'alimentation. Tous les organes sont altérés. Le pancréas n'est plus structuré, il n'y a plus de grains de zymogène, ni de glycogène dans le foie. Certains noyaux sont pycnotiques.

2.2.2 Acides nucléiques | ARN:ADN et Gi

Le protocole d'extraction et de dosage de l'ADN et de l'ARN a été adapté de Yandi et Altinok (2015). Le protocole détaillé est donné en annexe (Cf. Annexes).

- Extraction

Les larves de poissons destinées aux analyses ARN:ADN ont été préalablement sorties du surgélateur puis ont été séparées et mesurées (longueur standard, SL) à l'aide d'une règle micrométrique sous loupe binoculaire éclairée à la lumière froide. Pour éviter tout risque de dégradation nucléaire lors des mesures, les larves ont été maintenues sur une boîte de pétrie remplie d'eau gelée en prenant soin à ce que le temps de manipulation n'excède pas 30 secondes.

Les larves ont été ensuite placées individuellement dans un tube de 2ml. Les tubes étaient disposés sur un support, lui-même placé dans une bassine remplie de glace pilée. Une quantité de 200µl de tampon Tris-SDS à 4°C a ensuite été ajoutée dans chaque tube, ainsi que cinq microbilles de verre. Les tubes étaient ensuite disposés dans un vortex pour une durée de 15 minutes. Le broyat était ensuite centrifugé à 8000G pendant 10 minutes à 4°C. Dans chaque tube, 360µl de 25:24:1 phénol/chloroforme/alcool isoamylique étaient ensuite ajoutés avant de placer les larves au vortex pendant 5 minutes puis en centrifugeuse à 3800G pendant 10 minutes à 4°C. Le surnageant était ensuite transféré dans un tube contenant au préalable 180µl de 24:1 chloroforme/alcool isoamylique puis à nouveau passé au vortex 5 minutes et 10 minutes à la centrifugeuse (3800G à 4°C). Enfin, le surnageant obtenu était transféré dans un nouveau tube.

- Dosage

Pour quantifier les acides nucléiques, entre 1 et 20µl (en fonction de la biomasse de la larve) d'extrait fut placé dans deux tubes PCR pour chaque larve. Dans un des deux tubes, 180-199µl (de manière à faire une solution finale de 200µl) de solution de réaction ADN étaient ajoutés tandis que l'autre recevait 180-199µl de solution de réaction ARN (cf. Annexes pour le détail des solutions). Les tubes PCR étaient ensuite homogénéisés 2 secondes au vortex avant de laisser incuber les tubes 2 minutes à température ambiante.

Enfin, les concentrations en ARN et ADN étaient mesurées au QUBIT et une valeur de RD était obtenue pour chaque larve analysée. Le RD a été calculé selon la formule suivante :

$$RD = \frac{[ARN]}{[ADN]}$$

Le taux de croissance instantané (G_i , jours⁻¹) a été calculé pour chaque larve d'après Buckley et al. (2008) afin de corriger l'effet de la température.

$$G_i = 0.0145 \times RD \times 0.0044 \times (sRD \times T) - 0.078$$

où RD correspond au rapport ARN:ADN mesuré et T à la température de surface de la mer (°C) à la station d'échantillonnage. Dans cette étude, le sRD (rapport standardisé, Caldarone et al. (2006)) n'a pas pu être utilisé car les protocoles de mesure utilisés diffèrent de ceux de Caldarone et al. (2006). Au lieu de cela, un RD non normalisé (i.e mesuré) a été utilisé. Une valeur de G_i de 0 (ou moins) signifie aucune croissance et une larve avec une valeur de 1 double sa biomasse par jour.

2.2.3 Analyses lipidiques

- Extraction

Les larves dédiées aux analyses lipidiques ont d'abord été lyophilisées à froid (-20°C) et leur poids sec a été mesuré avec une balance d'ultra précision (10⁻⁵ g). Les lipides ont ensuite été extraits des larves lyophilisées selon la méthode modifiée de Folch, avec un mélange 2:1 chloroforme-méthanol contenant 0,01% d'hydroxytoluène butyle (v / v / w) et 0,88% de NaCl, pour une proportion finale de 8:4:3 chloroforme / méthanol / eau (Folch et al., 1957). La phase lipidique a été filtrée, récupérée et séchée avec du sulfate de sodium anhydre et évaporée sous azote pour obtenir le poids total de lipides. Les lipides totaux (TL) ont été stockés à -80°C.

- Dosage

Les classes de lipides ont été quantifiées à l'aide d'un TLC – FID (détecteur à ionisation de flamme pour chromatographie sur couche mince dans un Iatroscan MK-6s - Analyzer Iatron Laboratories, Tokyo, Japon). Les TL (10 ug.ml⁻¹ dilués dans de l'hexane) étaient ensuite déposés sur les chromarodes (type S5) en utilisant un déposeur automatique (NTS 3000) configuré pour délivrer 2 µl. Des triplicats de chaque échantillon ont été analysés. Pour séparer les lipides neutres, les chromarodes ont été développées successivement en utilisant du 80:20:1 n-hexane:benzène:acide formique (v / v / v) pendant 30 minutes, suivis du 97:3:1,5 n-hexane:diéthyléther: acide formique (v / v / v) pendant 29 minutes. Après développement, les chromarodes ont été séchés dans un four à 110°C pendant 5 minutes puis immédiatement analysés avec le TLC-FID pour détecter et quantifier les différentes classes de lipides. Ainsi, des quantités de lipides neutres (Chol et TAG) ont été obtenues pour chaque larve ce qui a permis le calcul de l'indice suivant:

$$TAG:Chol = \frac{[TAG]}{[Chol]}$$

Le logiciel ChromStar CHS-1 a été utilisé pour calculer les zones de prélèvement et les temps de rétention. La quantité de TL a également été post calculée.

Chapitre 2 : Influences environnementales sur les variations spatio-temporelles des assemblages larvaires en Manche orientale et en baie sud de la mer du Nord



Ce chapitre vise à présenter les conditions environnementales rencontrées au cours des campagnes océanographiques réalisées lors de l'hiver et du printemps 2017 (chapitre 2.1). En plus des abondances des principales espèces rencontrées durant chaque campagne, les abondances des stades larvaires des espèces cibles de la thèse ont été cartographiées.

Dans le contexte d'un environnement changeant, il a été montré que depuis la fin des années 1990, il existe en MO des changements d'assemblages et d'abondances de plusieurs compartiments de l'écosystème pélagique (phytoplancton, zooplancton et poissons) en raison d'une augmentation de la température de l'eau (Beaugrand et al., 2003; McLean et al; 2018a). Grâce à une analyse multi-échelles, nous avons étudié les différentes sources de variations spatio-temporelles sur les assemblages incluant les changements saisonniers, interannuels et environnementaux. Le chapitre 2.2 vise donc à décrire les assemblages ichtyoplanctoniques printaniers afin de caractériser leurs enveloppes environnementales, et évaluer les différences observées entre deux périodes contrastées, 2017 et les années 1990.

1 Variations spatio-temporelles des assemblages larvaires et des conditions environnementales lors du premier semestre 2017

Les données environnementales et d'abondances ichthyoplanctoniques ont été récoltées au cours de l'année 2017 en hiver et au printemps (voir chapitre 1).

1.1 Traitements des données

Les données environnementales et d'abondances larvaires ont été analysées grâce au logiciel R (R core team, 2018). Les paramètres environnementaux ont été comparés deux à deux par un test de corrélation de Pearson.

Chaque paramètre environnemental a été interpolé par krigeage (package *gstat*) et cartographié (package *mapplots*) via des méthodes de géostatistiques suivant Legendre et Legendre (2012). Préalablement, un variogramme expérimental (variance d'une variable en fonction de la distance entre deux échantillons) a été calculé selon la formule suivante :

$$\gamma(d) = \frac{1}{2w(d)} \sum_{i=1}^{w(d)} (y_i - (y_i + d))^2$$

Où d correspond à la distance entre deux échantillons, i le vecteur des coordonnées et $w(d)$ la classe de distance d . Un variogramme théorique a ensuite été calculé de manière à s'ajuster au variogramme expérimental par la méthode de Webster et Oliver (2007). Le variogramme théorique a servi ensuite à estimer la valeur de la variable (i.e $z(x)$) au niveau de chaque cellule d'une grille régulière grâce à la méthode d'interpolation du krigeage avec les voisins les plus proches. La grille recouvrait la zone d'étude avec une maille de 0,015 degrés décimaux.

Les abondances des larves de poissons (nombre d'individus pour 100m³ d'eau au printemps et 1000m³ en hiver) ont été calculées pour chaque taxon (i.e espèce ou genre). Elles ont ensuite été cartographiées pour chaque espèce cible : la

plie (*P. platessa*) pour la campagne hivernale, le merlan (*M. merlangus*), le sprat (*S. sprattus*) et la sole (*S. solea*) pour les campagnes printanières.

1.2 Résultats

1.2.1 Campagne hivernale

1.2.1.1 Hydrologie

Les paramètres environnementaux hydrobiologiques relevés dans 139 stations au cours de la campagne IBTS 2017 ont été comparés deux à deux. Les résultats des corrélations de Pearson ont été représentés en Figure 13 et les données ont été cartographiées (Figure 14).

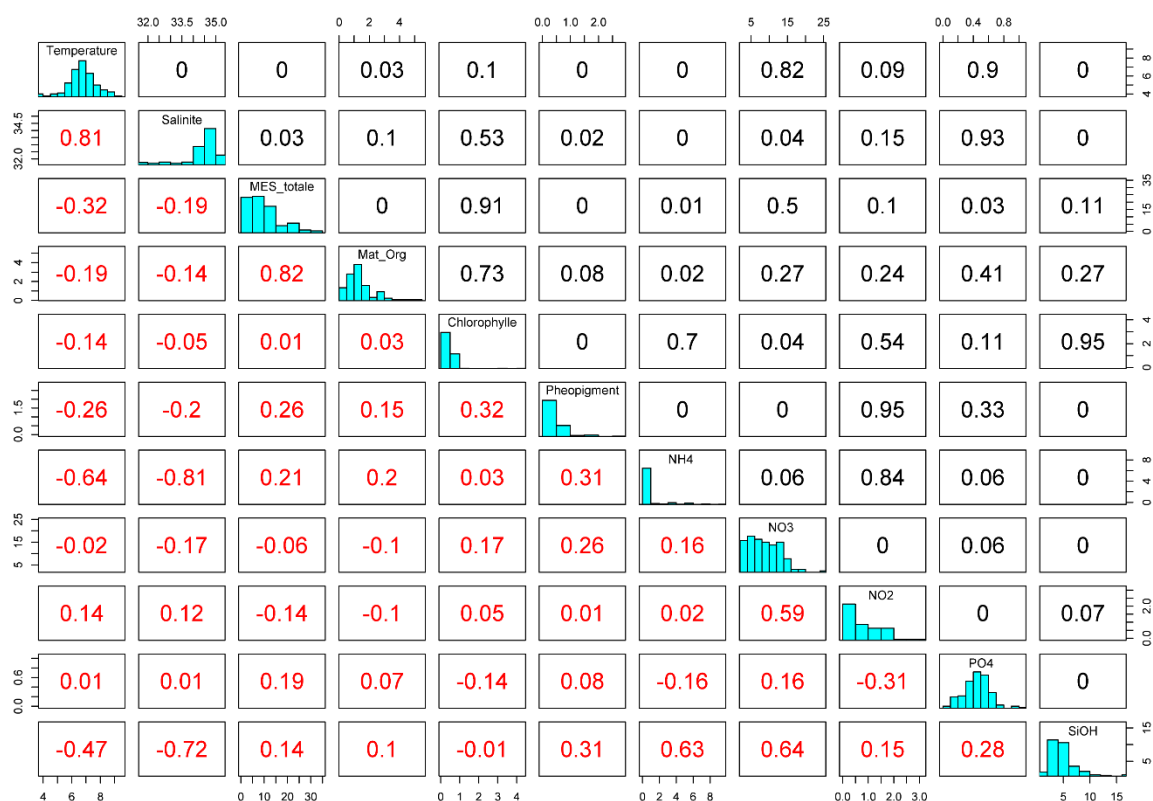


Figure 13 | Résultats des calculs des tests de corrélation de Pearson réalisés sur toutes les variables mesurées durant la campagne IBTS 2017. Le R^2 est écrit en rouge et la p-value en noir.

La plus forte corrélation s'observe entre la matière organique (Mat_Org) et la matière en suspension (MES_totale) avec un R^2 de 0,82 ($P < 0,01$) suivie par température et salinité ($R^2 = 0,81$, $P < 0,01$). Concernant les paramètres biotiques, la chlorophylle et les phéopigments sont corrélés ($R^2 = 0,32$) de manière significative ($P < 0,01$). Comparée aux sels nutritifs, la chlorophylle est seulement significativement corrélée aux nitrates ($R^2 = 0,17$; $P = 0,04$) tandis que les phéopigments sont liés à l'ammoniaque ($R^2 = 0,31$; $P < 0,01$), aux nitrates ($R^2 = 0,26$; $P < 0,01$) et aux silicates ($R^2 = 0,31$; $P < 0,01$). Les nitrites sont seulement corrélés significativement aux nitrates ($R^2 = 0,59$; $P < 0,01$). Une forte corrélation est également observée entre la silice et l'ammoniaque ($R^2 = 0,63$; $P < 0,01$), eux-mêmes fortement corrélés

néativement à la salinité (R^2 de -0,72 et -0,81 respectivement) de manière significative ($P < 0,01$).

La température moyenne au cours de la campagne était de 6,8°C avec un écart type de 1°C. Les plus fortes températures enregistrées se trouvent en MO tandis que les plus faibles se situent le long de la côte est de la BSMN. La salinité suit ce même schéma, avec une valeur moyenne relativement stable ($34,4 \pm 0,7$). Les MES et la matière organique semblent être concentrées dans certaines zones de la BSMN. La chlorophylle était en quantité faible et variable ($0,5 \pm 0,4 \mu\text{g.L}^{-1}$) avec une zone à forte concentration située le long des côtes françaises au niveau du détroit du pas de Calais, de même que pour les phéopigments ($0,4 \pm 0,4 \mu\text{g.L}^{-1}$). Les nitrates ($8,7 \pm 4,1 \mu\text{mol.L}^{-1}$) et la silice ($4,8 \pm 2,4 \mu\text{mol.L}^{-1}$) sont principalement concentrés le long de la côte est de BSMN. Pour l'ammoniaque ($0,7 \pm 1,7 \mu\text{mol.L}^{-1}$) et les nitrites ($0,8 \pm 0,7 \mu\text{mol.L}^{-1}$), les plus fortes concentrations se trouvent au large de la frontière entre l'Allemagne et les Pays Bas. Les phosphates ($0,5 \pm 0,2 \mu\text{mol.L}^{-1}$) sont le plus fortement concentrés au niveau des estuaires hollandais et le long des côtes du Norfolk (Angleterre).

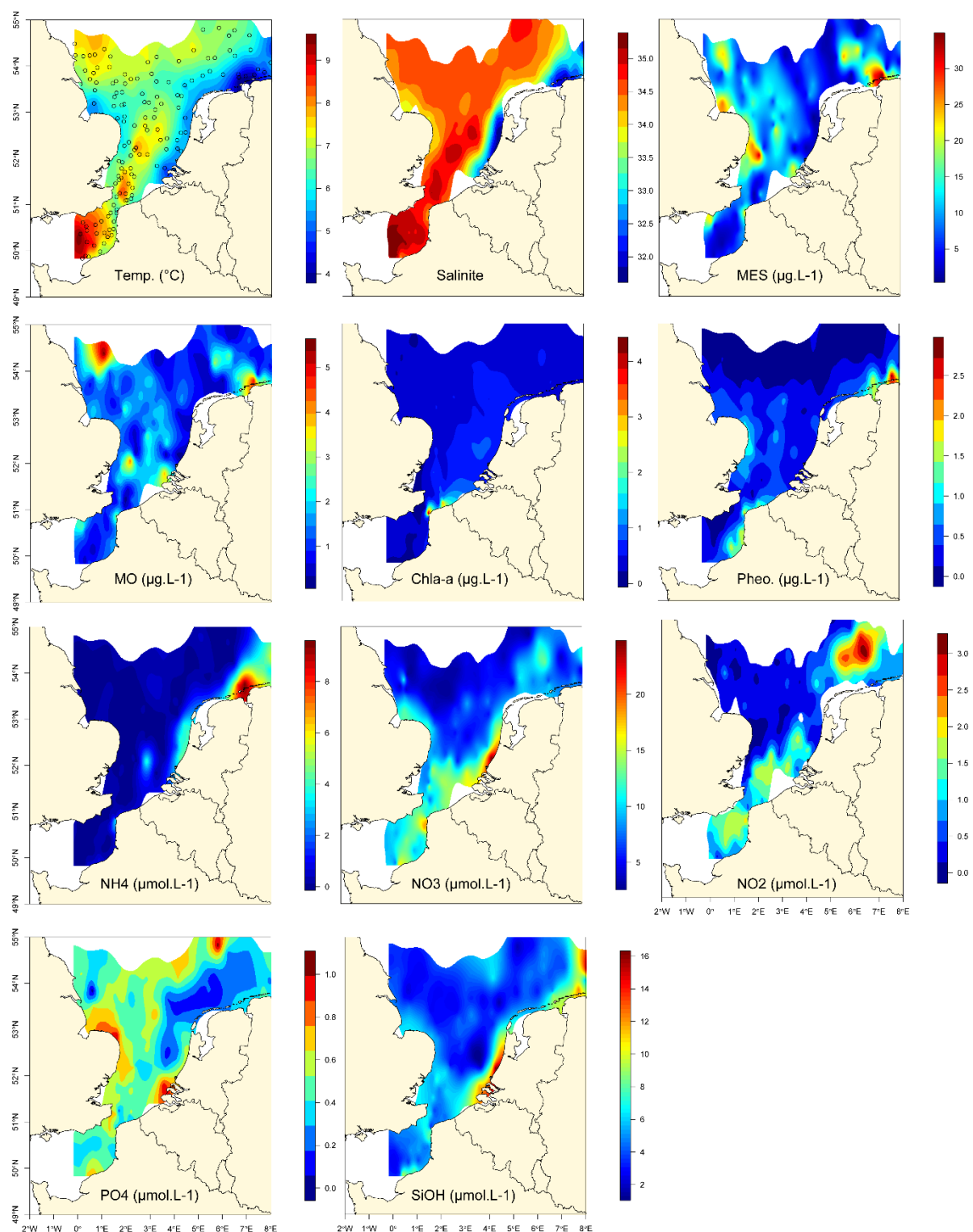


Figure 14 | Distribution spatiale des paramètres hydrobiologiques pendant l'hiver (mi-Janvier-mi-Février) en MO-Mer du Nord. Les stations de mesures ont été représentées dans la carte des températures.

1.2.1.2 Assemblages ichthyoplanctoniques

Les moyennes d'abondances non nulles par taxon (nombre d'individus par 1000m³ d'eau) ont été calculées (tableau 4). Les taxons ont été classés selon leur rang de dominance durant la campagne. Par taxon, la fréquence d'occurrence (i.e pourcentage de stations où le taxon a été rencontré) a également été calculée. Les résultats obtenus pour les 10 taxons les plus abondants sont représentés dans le Tableau 4.

Tableau 4 | Proportion, abondances moyennes non nulles et fréquence d'occurrence (pourcentage de stations avec présence) des dix taxons les plus abondants durant la campagne IBTS 2017.

Rang	Taxon	Nom commun	Proportion (%)	Proportion cumulée (%)	Abondance moyenne (nb_ind.1000m ⁻³) ± SD	Fréquence d'occurrence (%)
1	Clu har	Hareng	95,2	95,2	415,4 ± 1139,8	78,6
2	Ple pla	Plie	2,3	97,5	16,3 ± 22,9	47,6
3	Amm spp	Ammodytidés	0,9	98,4	9,2 ± 16,7	32
4	Sar pil	Sardine	0,6	99	4,3 ± 11,6	49,5
5	Cry lin	Gobie cristal	0,3	99,3	1,9 ± 2,8	55,3
6	Aph min	Gobie transparent	0,3	99,6	1,5 ± 3,2	59,2
7	Gob spp	Gobidés	0,2	99,7	2,2 ± 3,9	25,2
8	Tri lus	Tacaud	0,1	99,8	1,4 ± 1,3	23,3
9	Mic kit	Limande Sole	0,1	99,9	0,7 ± 0,9	29,1
10	Pom spp	Pomatoschistus	<0,1	99,9	0,5 ± 0,6	24,3

En hiver 2017, le hareng dominait largement les assemblages larvaires, représentant 95,2% des larves capturées. L'abondance moyenne de cette espèce dans les stations où elle était présente était de 415 individus par 1000m³. Enfin, le hareng a été rencontré dans 78,6% des stations échantillonnées. Avec une proportion de seulement 2,3% des individus capturés, la plie était la seconde espèce la plus abondante avec une fréquence d'occurrence de 47,6%. Les autres espèces rencontrées durant la campagne représentent moins de 1 % des assemblages.

- Répartition de la plie

A chaque station, les larves récoltées ont été identifiées et dénombrées suivant leur stade de développement (Figure 15).

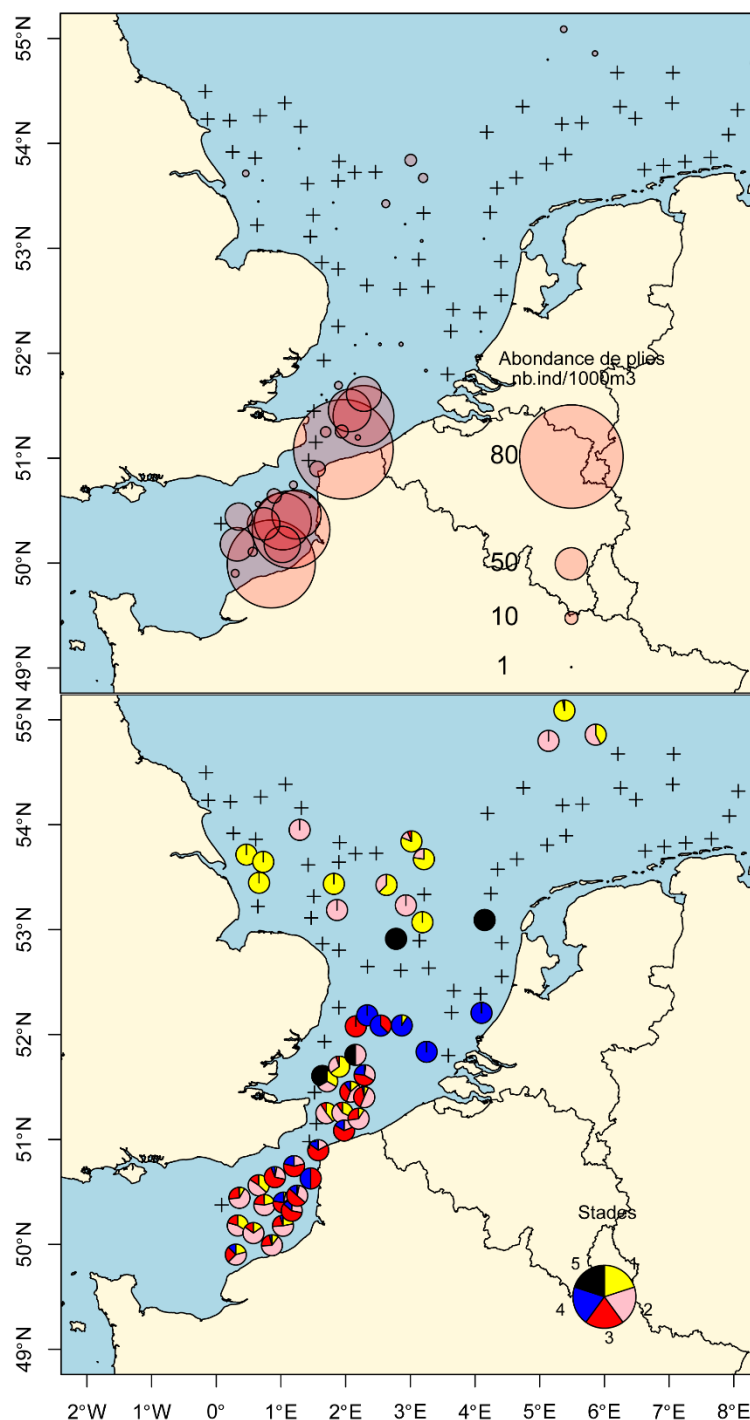


Figure 15 | Répartition des abondances et des proportions des stades de développement de la plie durant IBTS 2017. Les croix signifient une absence de larve.

Les plus fortes abondances rencontrées se trouvaient en MO et à l'extrême sud de la BSMN. Dans cette zone, un gradient ontogénique du sud-ouest au nord-est a été mis en évidence avec les jeunes stades au sud et les stades plus âgés plus au nord. C'est là où les plus fortes abondances ont été rencontrées et que l'on retrouve les plus fortes proportions de jeunes stades (i.e stades 2 et 3). Peu de larves ont été capturées au Nord de la BSMN avec principalement des stades 1 et 2.

1.2.2 Campagnes printanières

Au printemps 2017, ce sont trois campagnes océanographiques qui ont eu lieu en mars (REIVE 1), avril (PHYCO) et mai (REIVE 2) le long des côtes de MO.

1.2.2.1 Hydrobiologie

Les paramètres environnementaux relevés dans 98 stations environnementales au cours des campagnes printanières de 2017 ont été comparés deux à deux. Les résultats des calculs des corrélations de Spearman ont été reportés

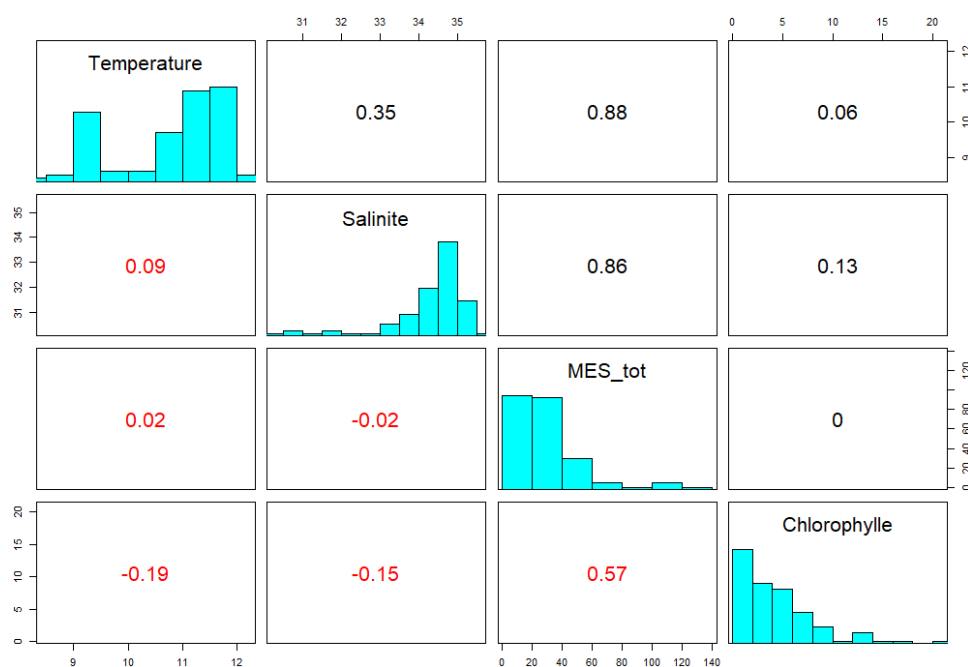


Figure 16 | Résultats des tests de corrélation réalisés sur toutes les variables mesurées durant les campagnes REIVEs et PHYCO. Le R^2 est écrit en rouge et la p-value en noir.

sur la Figure 16.

Les données obtenues pour les paramètres environnementaux mesurés au cours des campagnes sont peu corrélées entre elles, excepté la chlorophylle avec la MES ($R^2 = 0,57$; $P < 0,01$). Aucune autre relation significative n'a été observée.

Les valeurs environnementales mesurées ont été cartographiées grâce au krigeage (Figure 17) et leurs caractéristiques statistiques reportées dans le Tableau 5.

Tableau 5 | Valeurs moyennes, minimales, maximales et écarts types des paramètres environnementaux mesurés au cours des trois campagnes printanières.

Campagne	Mois	Température de surface (°C)				Salinité				Chlorophylle a ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				MES ($\mu\text{g.L}^{-1}$)			
		Moyenne	SD	min	max	Moyenne	SD	min	max	Moyenne	SD	min	max	Moyenne	SD	min	max
REIVE1	Fin mars	9,2	0,3	8,5	9,9	34,0	1,3	30,3	35,1	6,8	5,1	0,5	20,7	33,9	19,6	20,3	116,2
PHYCO	Fin avril	11,3	0,4	10,5	11,9	34,3	0,8	30,9	35,5	4,2	2,9	0,7	14,7	26,9	19,6	4,1	90,8
REIVE 2	Début mai	11,6	0,3	11,1	12,2	34,3	1,0	30,7	35,1	3,5	3,5	0,5	13,6	33,9	37,3	6,1	138,0

On observe une augmentation de la température moyenne au cours de la saison, avec de plus fortes températures enregistrées le long des côtes françaises. La salinité était relativement stable au cours de la saison. Les plus faibles valeurs enregistrées se trouvent au niveau de la baie de Seine ainsi qu'au niveau de l'estuaire de la Somme. Les MES sont principalement concentrées le long des côtes françaises, notamment durant le mois de mai. La chlorophylle est en plus forte concentration durant mars, surtout à l'embouchure de la baie de Somme, avec une décroissance au cours de la saison.

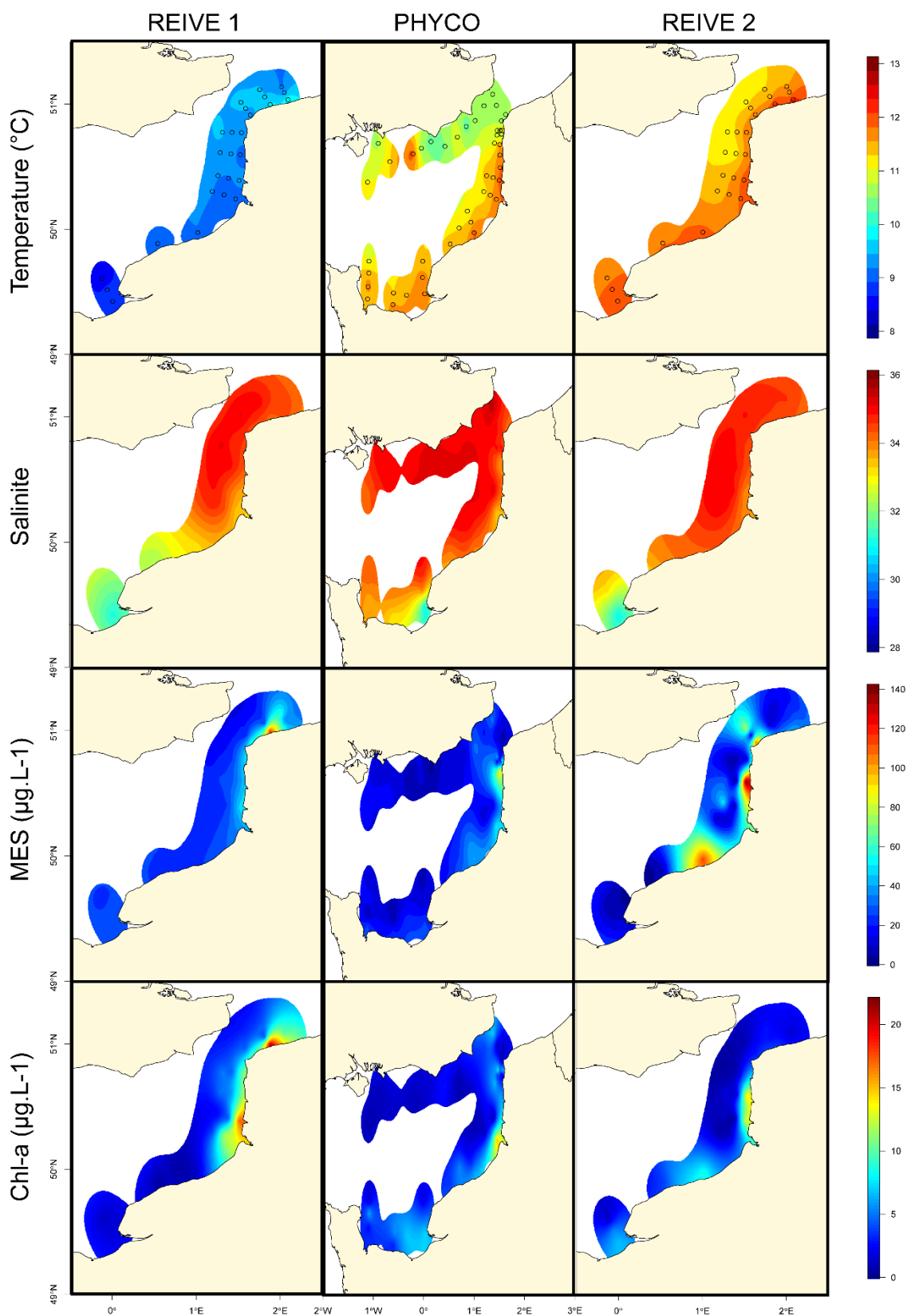


Figure 17 | Distribution spatiale des paramètres hydrobiologiques pendant le printemps (mars à mai) le long des côtes de MO. Les stations de mesures ont été représentées dans les cartes des températures.

1.2.2.2 Assemblages ichthyoplanctoniques

Les abondances moyennes (nombre d'individus par 100m³ d'eau) de chaque taxon par campagne ont été calculées. Un rang et une fréquence d'occurrence leur a été attribué. Les résultats obtenus pour les 10 taxons les plus abondants de chaque campagne ont été représentés dans le Tableau 6. En se concentrant sur les espèces cibles de l'étude, le sprat est l'espèce la plus abondante durant tout le printemps, représentant entre 30,7 et 46,3% des larves capturées, avec une augmentation de la proportion et des abondances moyennes au cours de la saison. Le sprat est également très bien représenté dans les stations échantillonnées avec une fréquence d'occurrence comprise entre 84,6 et 100%. La sole représente la quatrième espèce la plus abondante en mars (9,9% des larves capturées) avec une abondance moyenne de 8,7 individus par 100m³ dans les stations où elle était présente. Ces larves ont été collectées sur près de la moitié des stations. En avril et mai, la sole était la troisième espèce la plus abondante avec un nombre moyen d'individus par station de 23,6 et 22,8 par 100m³ d'eau respectivement. Cette espèce a été cependant plus souvent rencontrée en mai avec une fréquence d'occurrence de 96,1% contre 92,6% en avril. Les plus fortes abondances de merlan ont été relevées en avril avec en moyenne 17,2 individus par 100m³ d'eau dans les stations où l'espèce était présente, contre 5,8 en mars et 6,9 en mai. La proportion d'occurrence était également plus forte en avril où le merlan a été rencontré dans 85,2% des stations échantillonnées contre 46,1% en mars et 76,9% en mai.

Tableau 6 | Proportion, abondances moyennes non nulles et fréquence d'occurrence (pourcentage de stations avec présence) des dix taxons les plus abondants durant les trois campagnes du printemps 2017.

Campagne	Rang	Taxon	Nom commun	Proportion (%)	Proportion cumulée (%)	Abondance moyenne (nb_ind.100m ⁻³) ± SD	Fréquence d'occurrence (%)
REIVE 1	1	Spr spr	Sprat	30,7	30,7	15,9 ± 19,6	84,6
	2	Amm spp	Ammodytides	16,3	47	9,8 ± 13,7	73
	3	Lim lim	Limande	13,5	60,5	17,1 ± 17,6	34,6
	4	Sol sol	Sole	9,9	70,4	8,7 ± 16,8	50
	5	Clu har	Hareng	8,2	78,6	5,5 ± 6,5	65,4
	6	Mer mer	Merlan	6,1	84,7	5,8 ± 6,8	46,1
	7	Tri lus	Tacaud	3	87,7	3,8 ± 4,1	34,6
	8	Pla fle	Flet	2,6	90,3	3,8 ± 3,6	19,2
	9	Lot spp	Lotides	2	92,3	2,6 ± 3,6	34,6
	10	Cot spp	Cotides	1,3	93,6	1,7 ± 0,7	34,6
PHYCO	1	Spr spr	Sprat	33,1	33,1	71,4 ± 106,7	88,9
	2	Lim lim	Limande	11,6	44,7	27,4 ± 39,8	81,5
	3	Sol sol	Sole	11,4	56,1	23,6 ± 28,4	92,6
	4	Cal spp	Callionymes	10,3	66,4	23,2 ± 24,2	85,2
	5	Mer mer	Merlan	7,7	74,1	17,2 ± 21,8	85,2
	6	Gob spp	Gobies	5,9	80	16,9 ± 31,5	66,7
	7	Clup spp	Clupéides	5,4	85,4	40 ± 35,3	25,9
	8	Amm spp	Ammodytides	2,6	88	9,4 ± 9,9	51,2
	9	Tri lus	Tacaud	2,3	90,2	6,7 ± 8,9	66,7
	10	Sar pil	Sardine	1,9	92,1	48 ± 19,8	7,4
REIVE 2	1	Spr spr	Sprat	46,3	46,3	86,2 ± 122,6	100
	2	Lim lim	Limande	17,8	64,1	35,9 ± 52,3	92,3
	3	Sol sol	Sole	11,8	75,9	22,8 ± 39,8	96,1
	4	Gob spp	Gobies	7	82,9	13,6 ± 24,5	96,1
	5	Cal spp	Callionymes	6,3	89,2	12,1 ± 14,1	96,1
	6	Mer mer	Merlan	2,8	92	6,9 ± 4,8	76,9
	7	Bug lut	Sole Jaune	2,3	94,3	7,1 ± 13	61,5
	8	Amm spp	Ammodytides	1	95,3	3,6 ± 4,4	50
	9	Clu har	Hareng	1	96,3	23,5 ± 14,8	7,7
	10	Tri lus	Tacaud	0,7	97	2,5 ± 2,3	53,8

- Répartition des larves de sole, merlan et sprat

Les répartitions des abondances des trois espèces cibles sont détaillées. Il faut noter que seules les larves de sole ont été stadées.

❖ Répartition de la sole ; Figure 18

Les abondances de soles augmentent au cours de la saison. En Mars, seuls des stades 1, 2 et 3 ont été rencontrés. Les plus fortes abondances se situent aux stations les plus au large, notamment au large de l'estuaire de la Canche. Aucun individu n'a été capturé en face de la baie de Seine. Les premiers individus de stade 4 ont été capturés durant la campagne d'avril. Durant ce mois, les abondances les plus fortes se situent au niveau des estuaires de la Somme et de l'Authie où dominant les individus de stade 2. Des larves de soles sont aussi présentes le long des côtes anglaises avec des abondances relativement faibles. Enfin, en mai, des larves de stade 5 ont été capturées. Les plus fortes abondances de ces dernières se trouvent au niveau des trois estuaires, aux stations les plus côtières. Peu de larves ont été capturées au niveau de la baie de Seine.

❖ Répartition du merlan ; Figure 19

Le pic d'abondance des larves de merlan a eu lieu au cours du mois d'avril. Au mois de Mars les abondances étaient plus élevées aux stations au large des trois estuaires et du cap Gris-Nez. Comme pour la sole, aucune larve de merlan n'a été capturée en baie de Seine. En avril, les abondances maximales s'observent au niveau des côtes françaises. Cependant, un nombre d'individus relativement élevé a également été capturé le long des côtes anglaises. En mai, les abondances ont diminué comparé au mois précédent mais les zones de fortes abondances sont toujours situées le long des côtes entre la baie de Somme et le cap Gris-Nez.

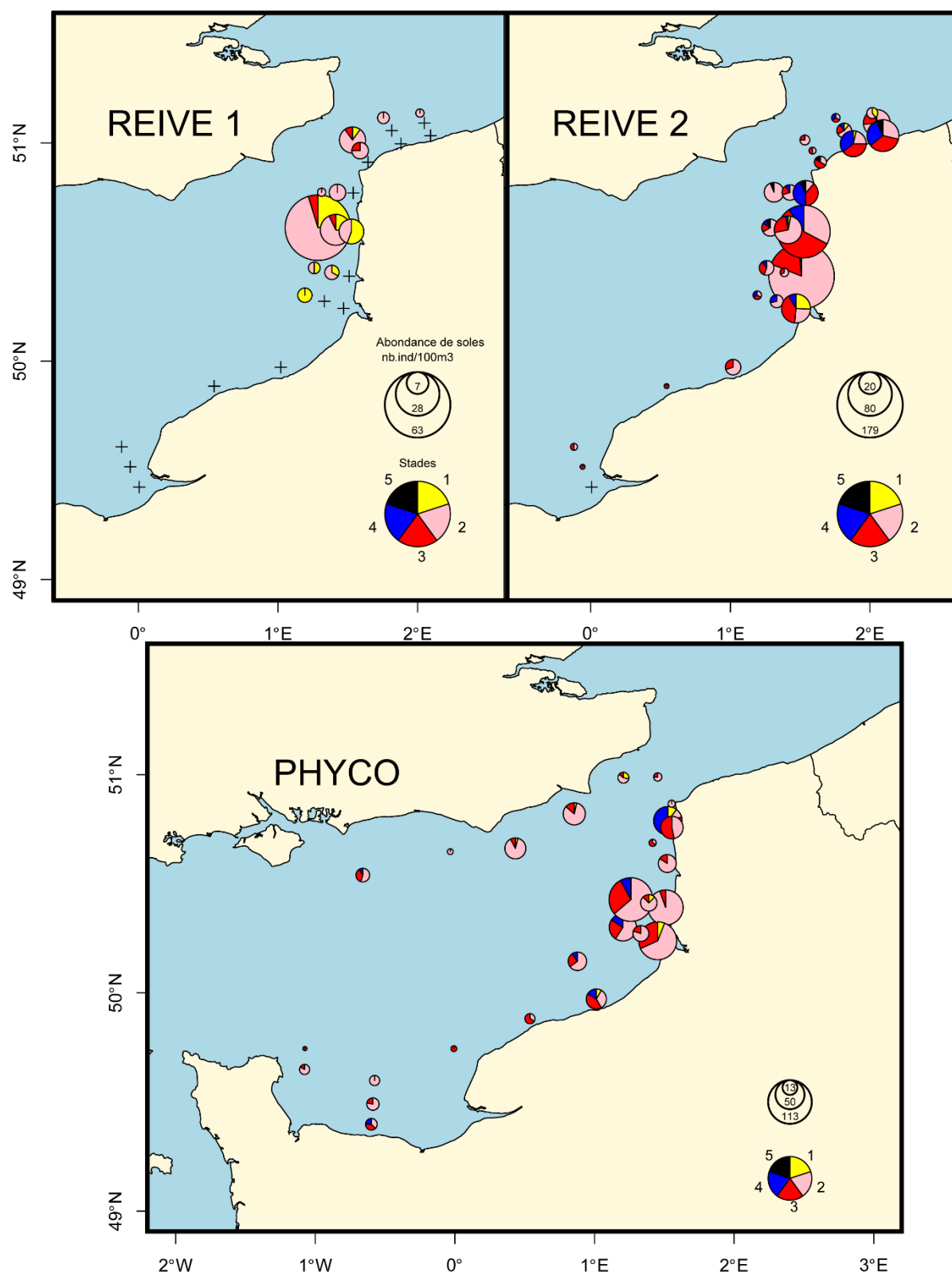


Figure 18 | Répartition des abondances et des proportions des stades de développement de la sole en MO durant le printemps 2017. Les croix signifient une absence de larve.

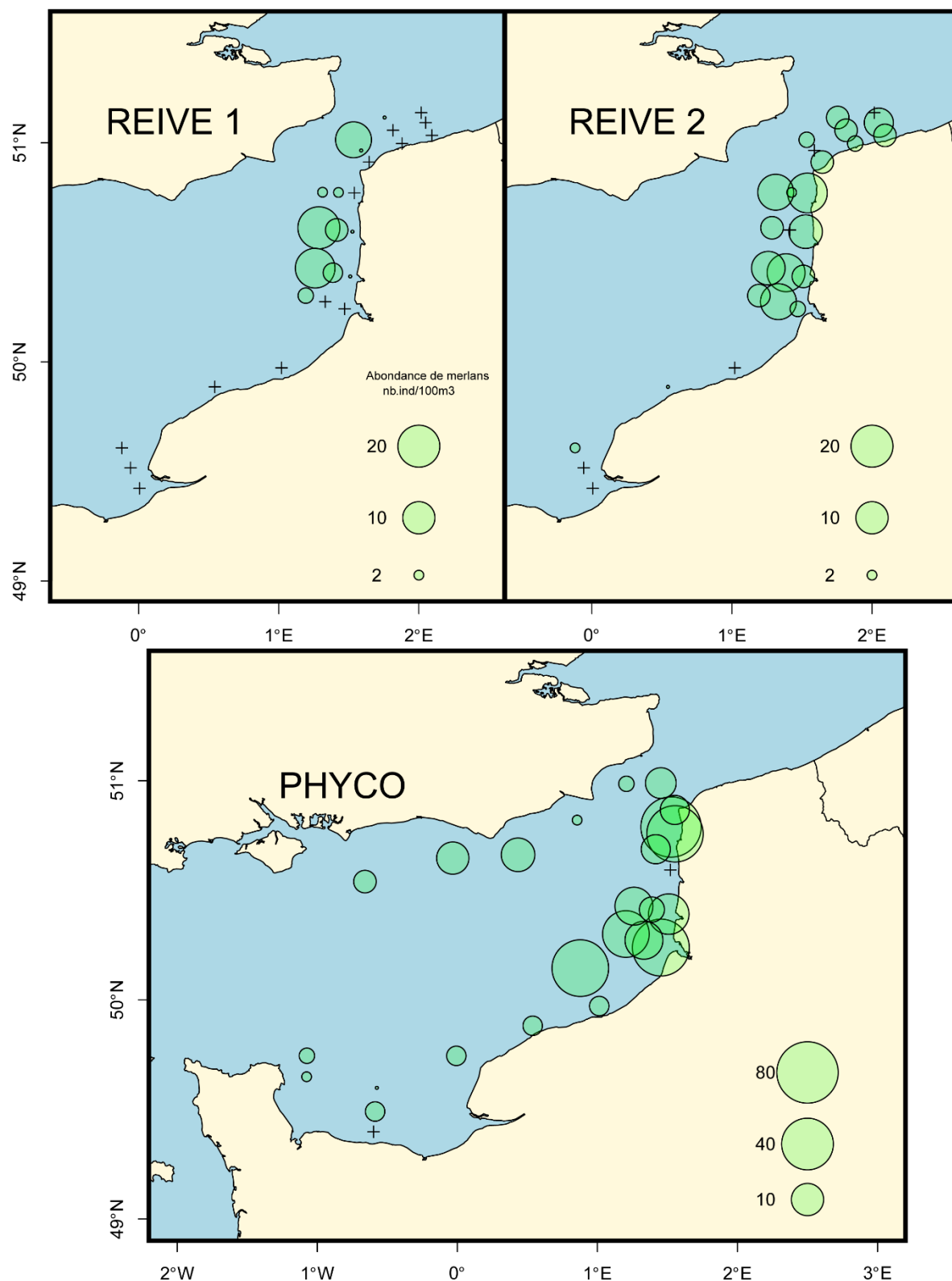


Figure 19 | Répartition des abondances du merlan en MO durant le printemps 2017. Les croix signifient une absence de larve.

❖ Répartition du sprat ; Figure 20

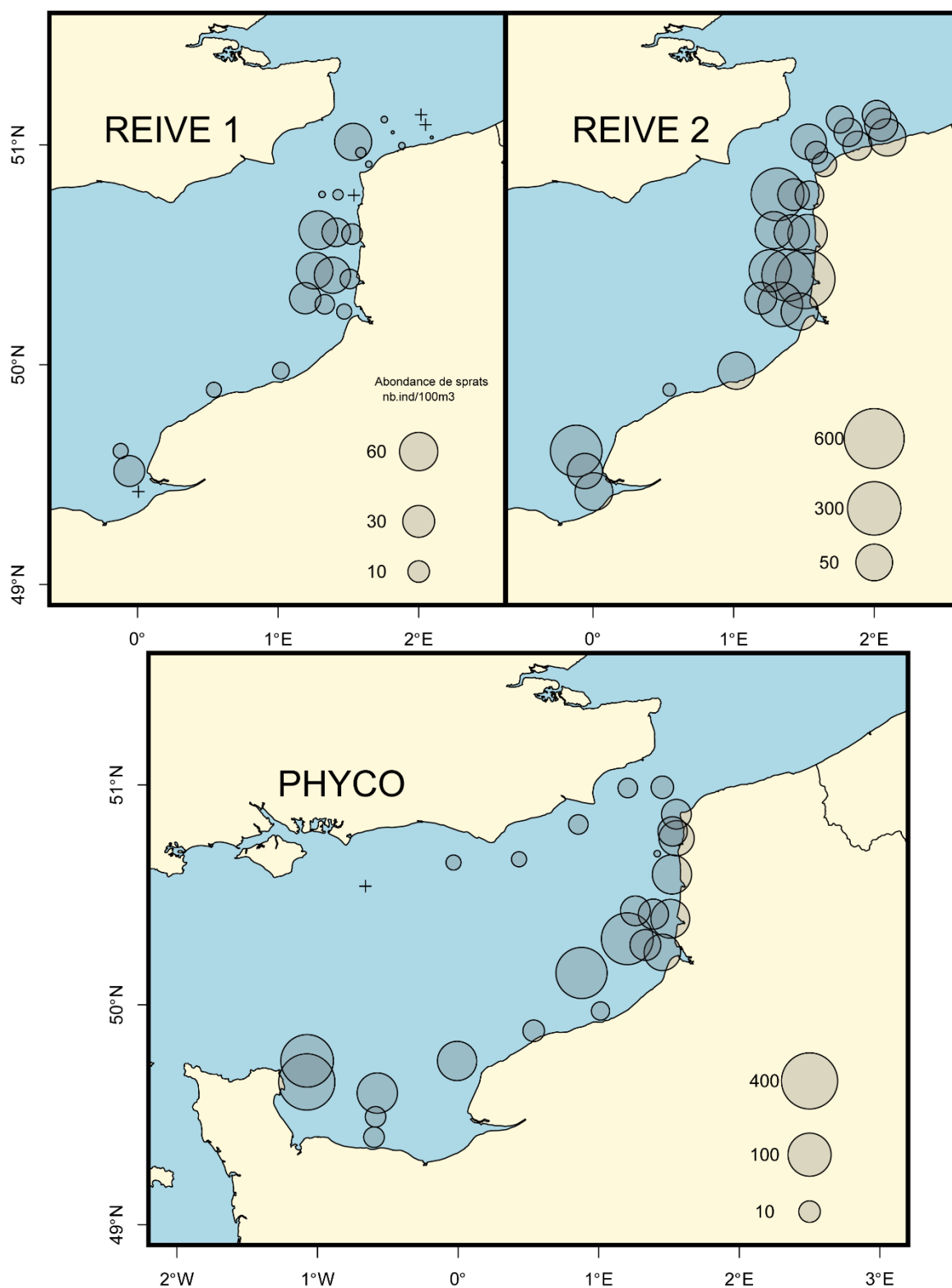


Figure 20 | Répartition des abondances du sprat en MO durant le printemps 2017. Les croix signifient une absence de larve.

Les abondances de sprat ont été en augmentation au cours de la saison. En mars, les plus fortes abondances se trouvent au niveau des trois estuaires (Somme, Authie et Canche). En avril, de fortes abondances près de la rade de Cherbourg sont observables tandis que celles le long des côtes anglaises sont faibles. En mai, la majorité des stations échantillonnées ont de fortes abondances de larves de sprat.

1.3 Discussion

Dans cette première partie du chapitre ont été abordées les variations spatiales et temporelles des facteurs environnementaux et des abondances larvaires des espèces de poissons, en se concentrant notamment sur les espèces cibles qui seront étudiées pour estimer leur condition.

1.3.1 L'environnement rencontré en 2017

La distribution des paramètres environnementaux durant la période hivernale, notamment les différences entre la MO et la BSMN ainsi qu'entre la côte et le large suivent le même schéma que celui observé par Delavenne et al. (2013). En hiver, Les eaux de la BSMN sont apparues plus froides et moins salées qu'en MO, notamment le long de la côte Est. En effet, l'entrée d'eau froide provenant de la mer Baltique et la circulation atmosphérique de l'Atlantique nord conduit à des eaux généralement plus froides qu'en Manche (Turrel, 1992). Le gradient côte-large observé est influencé par les apports terrigènes conduits par les fleuves qui entraînent une faible salinité et des eaux plus chargées en MES et pigments chlorophylliens. Les sels nutritifs étaient également plus concentrés sur la façade est de la BSMN. Là encore, ce sont les eaux continentales qui, en raison des phénomènes d'érosion et de lessivage des terres agricoles vont être fortement concentrées en nutriments. C'est surtout le cas en zone fortement anthropisées (Clark et Frid, 2001). Cependant, les différents sels nutritifs sont apparus peu

corrélés entre eux avec par exemple l'ammoniaque principalement concentré à la frontière entre l'Allemagne et les Pays-Bas et les nitrates le long des côtes des Pays-Bas. Cette variabilité pourrait venir de la différence de nature des bassins versants propres à chaque estuaire ainsi que de leur occupation (e.g type d'agriculture, niveau d'urbanisation).

Les données de sels nutritifs n'ont pas été relevées durant les campagnes printanières de 2017. En MO durant le printemps, le schéma de distribution de la température de surface était l'inverse de celui observé en hiver avec des eaux plus chaudes le long des côtes dues à une plus faible profondeur. Ainsi, comme défini par Brylinski et Lagadeuc (1990) le "fleuve côtier" possède une plus faible salinité mais de plus fortes températures, concentrations en MES et en chlorophylle (surtout en mars). La zone des trois estuaires picards possède des valeurs particulièrement fortes en chlorophylle et MES dû aux imports des fleuves.

1.3.2 L'ichtyoplancton échantillonné en 2017...

1.3.2.1 ... durant l'hiver...

Les populations de poissons des régions tempérées sont supposées frayer en fonction des blooms planctoniques saisonniers, ayant généralement lieux au printemps et en automne (Cushing, 1975; Sinclair et Tremblay, 1984). Cependant, bien que la productivité et la disponibilité alimentaire soient plus faibles, quelques espèces frayent durant la saison hivernale où la compétition inter spécifique est plus faible. Ceci est le cas de la plie et de la composante reproductrice du hareng des Downs qui dominent largement les assemblages larvaires de MO et BSMN durant l'hiver. Le hareng est une espèce à forte fécondité et représentait plus de 95% des larves capturées en 2017. Les plus fortes densités ont été observées au niveau de la

MO et de l'extrême sud de la BSMN. Cette zone est composée en majorité d'individus de petite taille, mais suivant un gradient de taille croissant en direction du nord-est. De plus faibles abondances ont été observées dans la partie nord de la BSMN, avec des individus de plus grande taille. Ce gradient de taille sud-nord est dû à deux facteurs principaux. Les larves le plus au sud sont issues de la composante de reproduction des Downs connue pour se reproduire durant l'hiver en MO (Maucorps, 1969). Ainsi, la dérive larvaire en direction de la mer du Nord va conduire à trouver des individus de plus en plus âgés en allant vers le Nord. Les individus de grande taille rencontrés encore plus au nord appartiennent eux à la composante des Banks (Heath et al., 1997) qui se reproduit en automne (Von Dorrien et al., 2013), soit plus tôt que le hareng des Downs.

Bien qu'une quinzaine de taxons aient été trouvés en hiver, cette saison est un période à fort déséquilibre interspécifique puisque la deuxième espèce la plus abondante, la plie, représentait seulement un peu plus de 2% des larves capturées. Comme pour le hareng, les plus fortes abondances de plies ont été rencontrées en MO et à l'extrême sud de la BSMN, selon un gradient ontogénique SO-NE mais moins prononcé. Cependant, quelques individus capturés plus au nord étaient de stade 1 et 2. La période de ponte de la plie, en Manche, s'étend de décembre à mars avec un maximum généralement situé en janvier-février (Russell, 1976; Van der Land, 1991). Le frai a lieu en eau peu profonde (au niveau du plateau continental, soit inférieur à 20 mètres de profondeur) (Gibson, 1997). Les œufs sont pélagiques et évoluent dans la colonne d'eau à différentes profondeurs selon l'état d'avancement du temps d'incubation, entre 15 et 30 jours (Russell, 1976). Houghton et Harding (1976) ont défini cinq secteurs de pontes en Manche avec deux au centre de la Manche occidentale, situés dans le sud d'une part de Start Point et d'autre part

de Portland Bill, et trois dans le centre de la MO, distribués entre le sud de Dungeness et le sud de l'île de Wight. Les œufs pondus en MO représenteraient, selon Houghton et Harding (1976), de l'ordre de 75 à 80% de la production totale de la Manche (Bennet et al., 1993). Les larves de plies éclosant en Manche, majoritairement en janvier et début février, seraient alors soumises à la dérive larvaire en direction de la mer du Nord (Fox et al., 2005) créant ainsi un gradient ontogénique comme pour les harengs de Downs. Toutes les zones de frai plus au nord sont actives à partir de février (large de la mer de Wadden) et mars (à l'ouest du Dogger Bank) ce qui explique les faibles abondances de jeunes individus qui ont été observées.

1.3.2.2 ... et durant le printemps...

En MO, au printemps, les assemblages étaient beaucoup plus diversifiés et équilibrés puisque ce ne sont pas moins de 80 taxons qui ont été rencontrés. Cependant, le sprat dominait largement les assemblages représentant près de la moitié des individus capturés, mettant en évidence le caractère extrêmement fécond de ces clupéidés. La période du frai pour cette espèce est prolongée et s'étend de janvier à juillet avec un pic au printemps (Haslob et al., 2012; Munk, 2005; Voss et al., 2011). La zone de frai est très vaste, amenant à rencontrer des larves à pratiquement toutes les zones échantillonnées (Carpentier et al., 2009), ce qui est en accord avec nos résultats.

Concernant le merlan en MO, la ponte commence en janvier pour s'intensifier en février et se poursuivre jusqu'en juin avec un pic en avril (Gibb et al., 2004). La période de frai individuelle est également étendue et peut durer entre six semaines et deux mois (Hislop, 1975). Ici, le maximum d'abondance larvaire a été rencontré en avril suggérant un avancement dans la période maximale de ponte.

Comme pour les autres espèces, les plus fortes abondances de soles ont été généralement rencontrées au niveau des estuaires avec un maximum d'individus en avril et mai. En Manche et au sud de la mer du Nord, la période de reproduction a été définie comme s'étalant de février à juin, avec une intensité maximale en avril et mai (Carpentier et al., 2009; Russell, 1976) suggérant également pour cette espèce un avancement dans la période de ponte. Les frayères s'étendent principalement en MO, avec des pontes localisées en majorité le long des côtes (Bennet et al., 1993; Rochette et al., 2010; Woehrling et Le Fèvre-Lehoërff, 1998). En MO, les plus fortes concentrations en œufs ont été observées dans le Déroit du pas de Calais, en Baie de Seine et autour de l'île de Wight (Bennet et al., 1993). Dans cette étude, peu de larves ont été capturées en baie de Seine. Le temps d'incubation des œufs est dépendant de la température de l'eau au moment de la ponte et s'étendrait sur une période de 5 à 11 jours (Riley, 1974; Russell, 1976). Après éclosion les larves possèdent une vie pélagique d'environ une à deux semaines avant de devenir benthiques. Le transport des larves a été étudié dans le nord du Golfe de Gascogne par Koutsikopoulos et Herbland (1987). Ces auteurs énoncent l'hypothèse que ce transport est réglé par le comportement même des larves, du fait que celles-ci ne se déplacent pas dans le même sens que les courants résiduels. En Manche, ce comportement pourrait limiter la dérive en direction de la Mer du Nord en raison des courants résiduels, entraînant une proximité spatiale des larves et des juvéniles (Carpentier et al., 2009; Eastwood et al., 2001; Grieco et al., 2001; Koubbi et al., 2006). Ainsi, Les larves parviennent dans les eaux côtières peu profondes des nourriceries au moment de la métamorphose et, dans les estuaires, on estime que cette arrivée relève d'un processus actif déterminé, entre autres, par les conditions de température et de salinité régnant au niveau du front estuarien (Dorel et al., 1991;

Marchand, 1991). Pour cette espèce, on observe donc un gradient ontogénique du large vers la côte.

Ce schéma de migration ontogénique des frayères en direction des nourriceries côtières suit le schéma de Harden-Jones (1968) et a été mis en évidence pour de nombreuses espèces côtières, et notamment pour la sole en MO par Grioche et al. (2001) et Koubbi et al. (2006) où les jeunes stades se trouvaient au début du printemps au large et les stades plus avancés en mai le long des côtes. Ainsi, les assemblages larvaires observés en MO et leur distribution au cours de la saison semblent pérennes et seraient liés à la mémoire des populations et à l'attachement géographique, conduisant à une répartition spatiale comparable entre les années (Loots et al., 2011). Cependant, les abondances larvaires rencontrées au cours du printemps 2017 bien qu'en accord avec Grioche et al. (1999 et 2001) en termes de distribution spatiale, semblent être largement plus faibles pour toutes les espèces échantillonnées.

Cette baisse d'abondances peut être due à un avancement des périodes de reproduction des espèces d'Atlantique nord ou aux variations interannuelles de production d'œufs. Une autre hypothèse tiendrait à mettre en cause les changements environnementaux brusques observés à la fin des années 1990. Une transition d'une phase froide à une phase chaude de la AMO (Atlantic Multidecadal Oscillation ; Drinkwater et al., 2014) a conduit à un réchauffement rapide des eaux de surface en MO (plus de 1°C entre 1998 et 2003) entraînant un changement de dominance des groupes principaux de dinoflagellés et de zooplancton (Alvarez-Fernandez et al., 2012; Beaugrand et al., 2003). Ce changement de phase pourrait également expliquer une baisse drastique des abondances de poissons (Auber et al., 2015, 2017) qui aurait atteint 80% en baie de Somme (McLean et al., 2018b).

2 Recent changes in ichthyoplanktonic assemblages of the English Channel¹

¹Published as Di Pane, J.; Koubbi, P.; Giraldo, C.; Lefebvre, V.; Caboche, J.; Marchal, P.; Loots, C. (2020) Recent changes in ichthyoplanktonic assemblages of the English Channel. *Journal of Sea Research*. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2020.101848>

In the context of global change, fish communities have undergone shifts in both abundance and species composition (Hawkins et al., 2013; Reid et al., 2001). In the Eastern English Channel (EEC), Auber et al. (2015, 2017) pointed out an increase in sea surface temperature at the end of the nineties (Drinkwater et al., 2014) to explain the significant decrease in fish abundance at the community level. However, the underlying mechanism remains unclear and the potential role of the larval phase in these changes needs to be investigated. The crucial role of the larval phase in fish population dynamics has been widely recognised (see Miller and Kendall, 2009; Somarakis et al., 2017). While spring surveys have been regularly programmed during the nineties on the southern EEC, no survey had been carried out from 1999 to 2017. The completion of three new surveys in 2017 conducted at the scale of the EEC throughout the springtime allowed to compare larval assemblages between the nineties and 2017.

The main objective of this chapter is to compare fish larvae assemblages in terms of species composition between these two contrasting periods of sea surface temperature. In particular, the role of different sources of variation, including spatial, seasonal, inter-annual and environmental effects, on the fluctuations of larval assemblages was investigated.

2.1 Data analyses

Data came from thirteen ichthyoplanktonic surveys that were conducted in the EEC between March and June in 1993, 1994, 1995, 1999 and 2017 (Figure 21; cf.

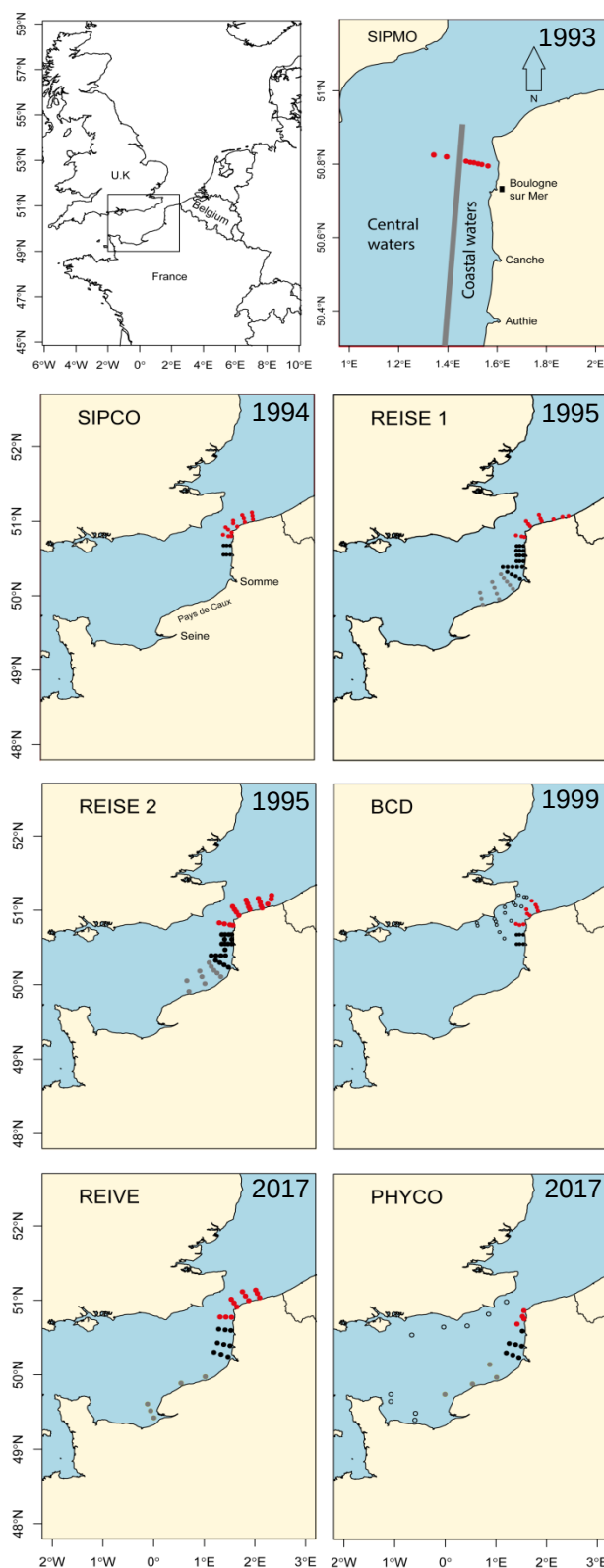


Figure 21 | Location of sampling stations. Colours correspond to the three areas used for the Kruskal-Wallis test (grey = area A; black = area B and red = area C). Open circles are stations which were not allocated to an area.

chapter 1 for dates).

Of the 80 taxa encountered, statistical analyses were performed on the 30 taxa that were present in at least five percent of the stations. Abundances were log-transformed ($\log[x+1]$). Statistical and multivariate analyses were applied under the R software (R Core Team, 2018) and the threshold of significance for all analyses was set to 5%. Fauna and environmental matrices were built with the stations in rows (i.e 308) and the taxa or variables in columns.

Annual differences in terms of total abundance were tested using a non-parametric Kruskal-Wallis test. Only taxa that accounted for 80% of the total abundance were kept. To account for spatio-temporal heterogeneity between surveys, Kruskal-Wallis tests were performed only on April and May since these months were sampled almost in each year. The southern side of EEC between the Bay of Seine and Belgium, i.e the common area for all surveys, was also divided in three areas based on sampling regularity between years and larval composition from previous studies (Grioche et al., 2001; Koubbi et al., 2006) (Figure 21). The first region (A) is from the Seine estuary to the south of the Somme estuary along the Pays de Caux. The second one (B) is linked to the three estuaries (Somme, Authie and Canche) of the Opale coast. This area was the most regularly sampled between years. The third region (C) goes from Boulogne-sur-Mer to Belgium. Monthly and annual boxplots of abundances were also calculated for taxa that accounted for 80% of the total abundance from all surveys.

A Principal Coordinates Analysis (PCoA) was used to compare the similarity of larval assemblages between all samples and surveys (package *ape*; Paradis and Schliep, 2018). PCoA is the generalization of the PCA to any distance matrix. Here,

the Bray Curtis distance was used to calculate the dissimilarity matrix from the fauna matrix.

The collinearity between the environmental and geographical variables was assessed using a Pearson correlation test. When two variables had a significant coefficient correlation higher or equal to 0.6, one of the two variables was removed.

Taxa-environment relationships were studied using the Outlying Mean Index analysis (OMI, Dolédec et al., 2000) from the *ade4* package in R (Dray and Dufour, 2007). This method is a co-inertia analysis between an environmental data matrix, in the form of a PCA, and a fauna data matrix. OMI investigates the relevance of the environmental factors by separating taxa according to the characteristics of their habitat. Average conditions are represented by the origin of the axes. OMI analysis provides for each taxon a marginality index (called OMI) that represents the distance between the average conditions of the habitat used by the taxon and the average conditions over all of the stations (i.e axes origin). It also provides a tolerance index (Tol), which is the spatial variance of the niche across environmental conditions. Taxa having a low OMI and high Tol values are represented close to the axes origin and are considered ubiquitous, i.e they occupy a wide range of environmental conditions. Conversely, high OMI and low Tol values represent marginal or specialist taxa. Significance of the OMI values was tested by a Monte Carlo permutation test (999 permutations).

Influence of the environment, space and time on larval composition variation was investigated using a variance partitioning approach (Mood, 1971; Peres-Neto et al., 2006) using the *vegan* package (Oksanen et al., 2019) and as proposed by Legendre and Legendre (2012). The aim of this approach is to calculate the amount

of variance explained in a fauna matrix by each of the set of explanatory variables once the effect of the other variables (called co-variables) has been removed. It also allows calculating the amount of explained variation that is shared by the different variables. For the environment, temperature and salinity were used as the explanatory variables. For time and space, variables were built using the Moran's eigenvector maps (MEM) approach which was proposed by Dray et al. (2006) based on Borcard and Legendre (2002). The principle of MEM is the construction of a series of variables representing either spatial (Loots et al., 2010) or temporal (Baho et al., 2015) structures. Three sets of variables: spatial, annual and seasonal, were created. For the seasonal and annual variables, the mean day of the month and the year of each survey were used to calculate the euclidean distance matrix. For the spatial variables, the distance matrix was calculated on the latitude and corrected longitude ($\text{longitude} \times \cos[(\text{latitude} \times \pi)/180]$) of the sampling stations (Loots et al., 2010). Distance matrices were then truncated by changing all values above a threshold (i.e the highest distance between two neighbors) to four times that threshold, so that all the points remained connected. Eigenvectors (MEMs) with positive eigenvalues were extracted from a PCoA performed on each truncated matrix. A redundancy analysis (RDA) was then performed between the detrended table and all positive MEMs variables from each set of variables before checking significance by a Monte-Carlo permutation test (999 permutations). Significant MEMs variables were selected using a forward selection based on their adjusted R-square (R^2_{adj}) with regard to the fauna data matrix, which was linearly detrended beforehand according to latitude and corrected longitude (Blanchet et al., 2008; Miller and Farr, 1971). The forward selection performs a Monte Carlo permutation test (999 permutations) on each variable and stops when either the R^2_{adj} threshold is reached when adding a new

variable or when the added variable is not significant. The variable inflation factor (VIF; Groß, 2003) was computed for each set of variables in order to examine the collinearity between environment, space and time (James et al., 2013). This method provides the ratio of variance between a model containing all variables and a model with a single variable. Only variables with a VIF below 15 were kept. Finally, variation partitioning was performed to quantify the part of variation in the larval assemblages explained by each set of variables (Anderson and Cribble, 1998), as well as the amount of explained variation shared by the different variables. The significance of the variation explained by each set of variables was assessed by a Monte Carlo permutation test (999 permutations).

2.2 Results

Table 7 | List of the most frequently found fish larval taxa between 1993 and 2017 in the sampling area. Codes used in figures are also indicated.

Scientific name	Common name	Code
Ammodytidae	Sandeels	Amm spp
<i>Buglossidium luteum</i>	Solenette	Bug lut
Callionymidae	Dragonets	Cal spp
<i>Clupea harengus</i>	Herring	Clu har
Cottidae	Cottids	Cot spp
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Sea bass	Dic lab
<i>Diplecogaster bimaculata</i>	Two-spotted clingfish	Dip bim
<i>Echiichthys vipera</i>	Lesser weever	Ech vip
Gadidae	Gadids	Gad spp
Gobiidae	Gobies	Gob spp
<i>Labrus bergylta</i>	Ballan wrasse	Lab ber
<i>Limanda limanda</i>	Dab	Lim lim
<i>Liparis liparis</i>	Common seasnail	Lip lip
<i>Liparis montagui</i>	Montagu's seasnail	Lip mon
Lotidae	Lings	Lot spp
<i>Merlangius merlangus</i>	Whiting	Mer mer
<i>Micrenophrys lilljeborgii</i>	Norway bullhead	Mic lil
<i>Microchirus variegatus</i>	Thickback sole	Mic var
<i>Platichthys flesus</i>	Flounder	Pla fle
<i>Pleuronectes platessa</i>	Plaice	Ple pla
<i>Sardina pilchardus</i>	European pilchard	Sar pil

<i>Scophthalmus maximus</i>	Turbot	Sco max
<i>Scomber scombrus</i>	Mackerel	Sco sco
<i>Solea solea</i>	Sole	Sol sol
<i>Sprattus sprattus</i>	Sprat	Spr spr
<i>Taurulus bubalis</i>	Longspined bullhead	Tau bub
<i>Trachurus trachurus</i>	Horse mackerel	Tra tra
<i>Trisopterus luscus</i>	Pouting	Tri lus
<i>Trisopterus minutus</i>	Poor cod	Tri min
Trisopterus	Trisopterus	Tri spp

Results of the Kruskal-Wallis test performed on total abundances between April and May for the three areas are given in Table 8. Overall, abundances in 2017 were significantly different from those in the nineties except for April in area C and with 1999 in area B. There were also differences within the nineties, in particular between 1999 and the other years for April in area A and B. The only difference among 1993, 1994 and 1995 was found in April in area C between 1993 and 1994.

Table 8 | Results of the Kruskal-Wallis tests comparison between years and areas (see Figure 21) for April and May surveys.

Month	Area	Years comparison	P
April	A	1995-2017	<0.01
		1994-1995	0.27
		1994-1999	<0.01
	B	1994-2017	<0.01
		1995-1999	<0.01
		1995-2017	<0.01
		1999-2017	0.95
		1993-1994	<0.05
	C	1993-1995	0.09
		1993-1999	0.38
		1993-2017	0.99
		1994-1995	0.98
		1994-1999	0.98
		1994-2017	0.37
		1995-1999	0.97
		1995-2017	0.59
		1999-2017	0.97
May	A	1995-2017	<0.01
		1994-1995	0.99
	B	1994-2017	<0.01
		1995-2017	<0.01
	C	1993-1994	0.96
		1993-1995	0.96
		1993-2017	<0.01
		1994-1995	0.99
		1994-2017	<0.01
		1995-2017	<0.01

Larval abundances per taxa summarized by year and month are presented in Figure 22. Of the 30 taxa initially used in the analysis, ten of them accounted for 80% of the cumulative abundance by month or year. These included two clupeids (sprat and herring), dragonets, gobies, sandeels, horse mackerel, whiting and three flatfishes namely solenette, dab and sole. Sprat was the most abundant taxa in all years and months contributing from 40% to 64.5% of the total abundance, followed by dragonets, gobies and sandeels. From 1993 to 1999, four or five taxa accounted

for 80% of the total abundance whereas it was six in 2017 due to lower taxa abundances.

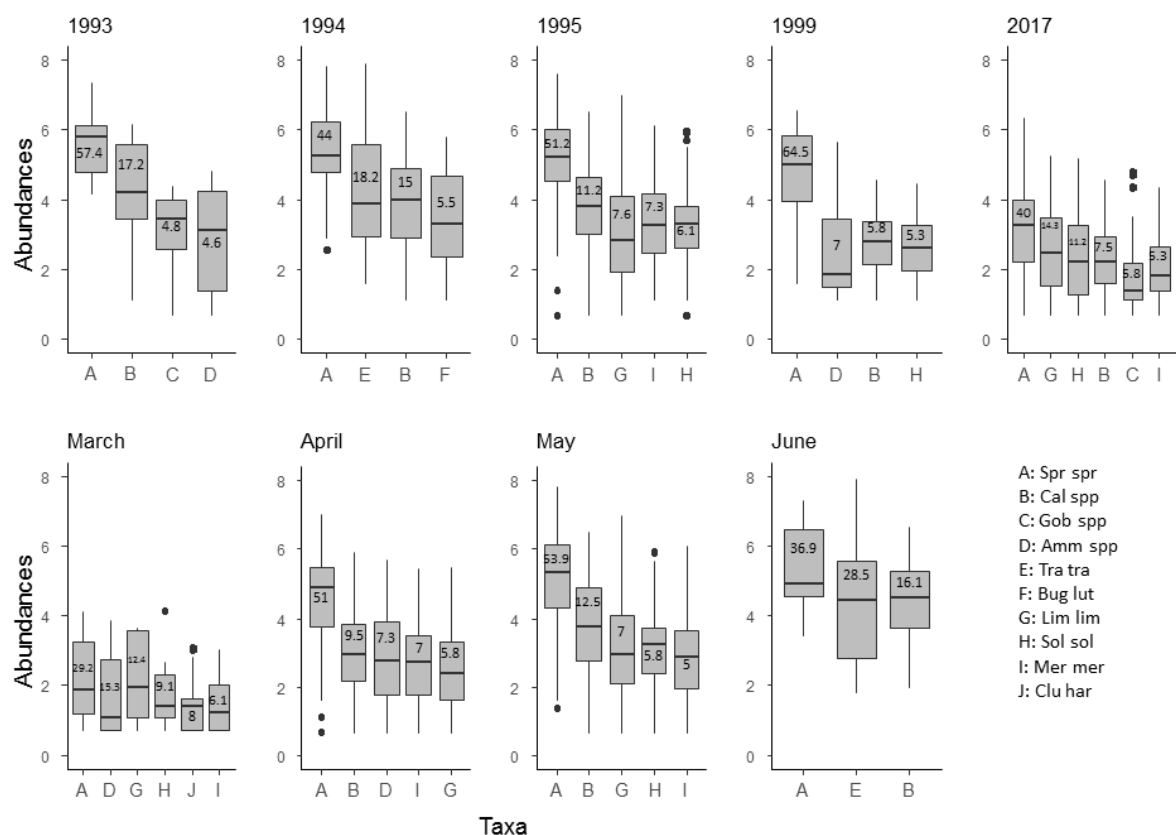


Figure 22 | Larval abundances (ind.100m⁻³, log-transformed) by year (top) and month (bottom). Numbers inside the box plots are the proportions (%). For each plot, only the taxa accounting for 80% of the cumulative abundance are represented. Taxa abbreviations are given in Table 7

Differences in larval fish composition between months were also found. In March six taxa accounted for 80% of the total abundance (sprat, sandeels, dab, sole, herring and whiting). In April, five dominant taxa emerged: sprat, dragonets, sandeels, whiting and dab whereas in May sandeels were replaced by sole. In June, the number of dominant taxa decreased to three with sprat, horse mackerel and dragonets. Sprat was always the most abundant taxa regardless of the months with a proportion ranging from 29.2% in March to 53.9% in May.

Results of the PCoA performed on larval assemblages per station and survey are given in Figure 23. The first two axes explained 50% and 23 % of the variability respectively. The different surveys were distributed along the first axis with March 2017 on the right, the ones of April and May in the middle and the June surveys of 1993 and 1994 on the left. If the seasonal succession of larval assemblages appears along the first axis, years were also distributed along this axis with 1993 and 1994 mainly on the left, 1995 and 1999 in the middle and 2017 on the right. On the second axis, April and May of the nineties were separated from the other surveys.

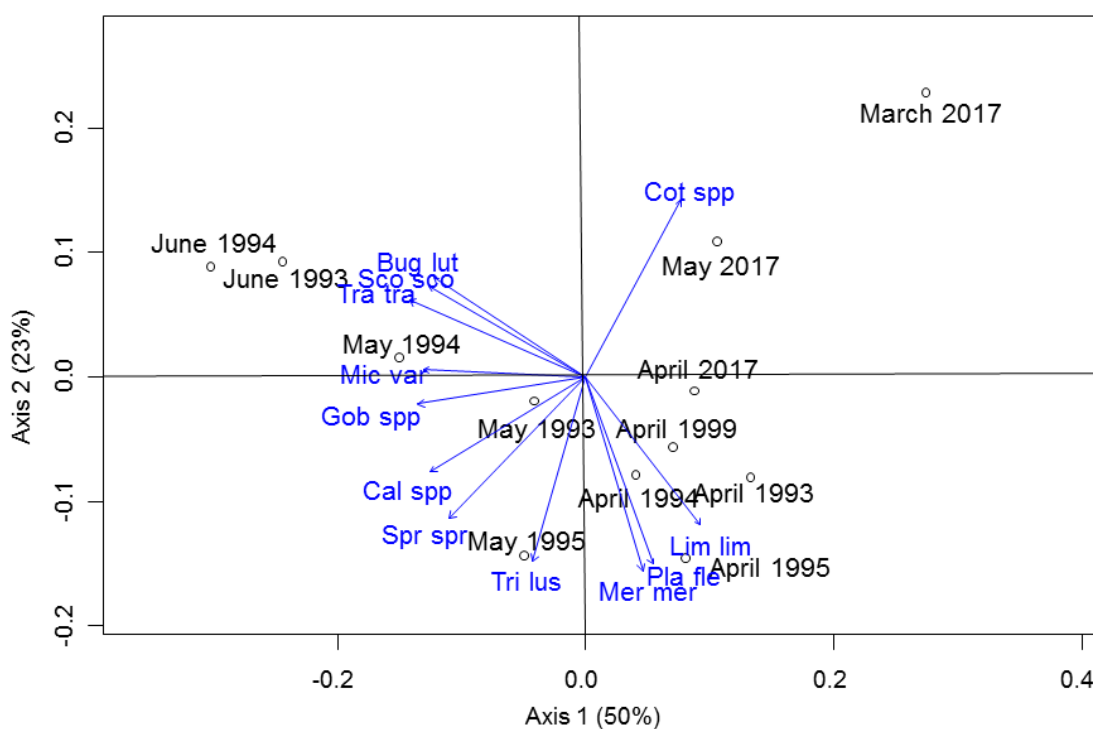


Figure 23 | Principal coordinate analysis, factorial plane of the first two axes. Only taxa contributing significantly to the period separation along the axes are represented (permutation test, 999 permutations). Taxa abbreviations are given in Table 7. The barycentric position of each survey (indicated as month and year) is also represented.

All significant taxa, except cottids, were associated to the nineties surveys. Dab, flounder and whiting were associated to April surveys. Thickback sole, gobies,

dragonets, sprat and pouting were associated to May surveys while solenette, mackerel and horse mackerel were close to June surveys.

A Pearson correlation test performed on the set of environmental and geographical variables revealed a strong correlation between latitude and bedstress ($R^2 = 0.61$; F-statistic: 159.7; $P < 2.2e^{-16}$), and latitude was therefore removed from further analyses.

Results of the OMI analysis built upon the PCA on environmental factors, selected by the correlation test, and the fauna matrix were used to explore fish larval environmental preferences and dependencies. The corresponding scatter plot is presented in Figure 24. The total inertia represented 60% of the fauna matrix variation. Both axes had a cumulative projected inertia of 86% (53% and 33% respectively). Taxa close to the origin are considered ubiquitous taxa (taxa not influenced by the set of variables). The total number of taxa was associated to depth and distance to the coast and not correlated with temperature. Most of the taxa were associated with these geographical variables and low temperatures whereas solenette, mackerel, horse mackerel and lesser weever were associated with high temperatures. Plaice and flounder appeared associated with stations far from estuaries with low temperatures.

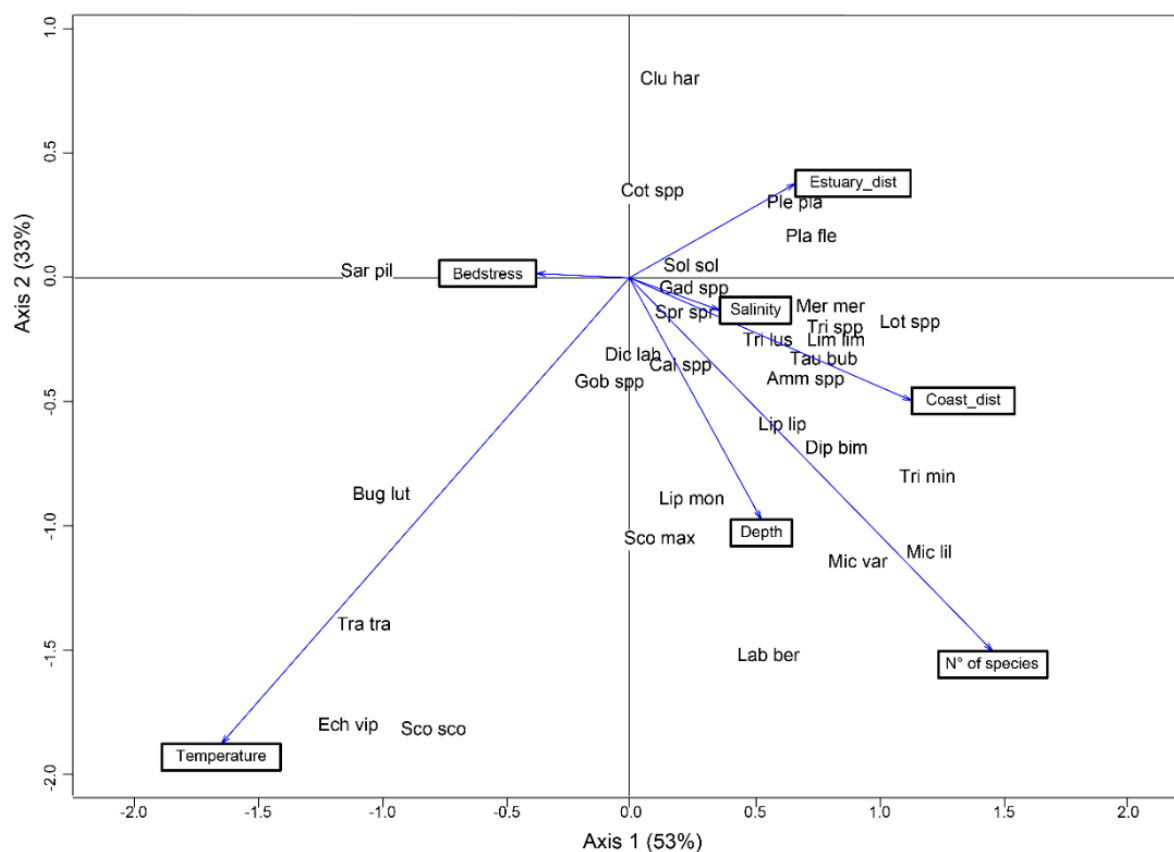


Figure 24 | OMI analysis: scatter plot of the first two axes. Arrow lengths represent the quality of representation of variables in boxes. Taxa abbreviations are given in Table 7.

OMI and tolerance values are represented in Figure 25. OMI values ranged from 0.06 to 4.85 for sprat and lesser weever respectively. The Monte Carlo permutation test showed that sea bass, two-spotted clingfish and gadids (other than whiting, pouting and poor cod) were not influenced by the set of variables used for the analysis. Sprat, sole, dragonets, gobies, pouting, whiting and sandeels had the lowest OMI values and high tolerance values, indicating ubiquitous taxa. Conversely, several taxa including lesser weever, mackerel, horse mackerel, sardine, wrasses, snailfishes and poor cod had the highest OMI values and lower tolerance values indicating specialist taxa. Other taxa like cottids and solenette had intermediate OMI and tolerance values indicating neither specialist nor generalist taxa.

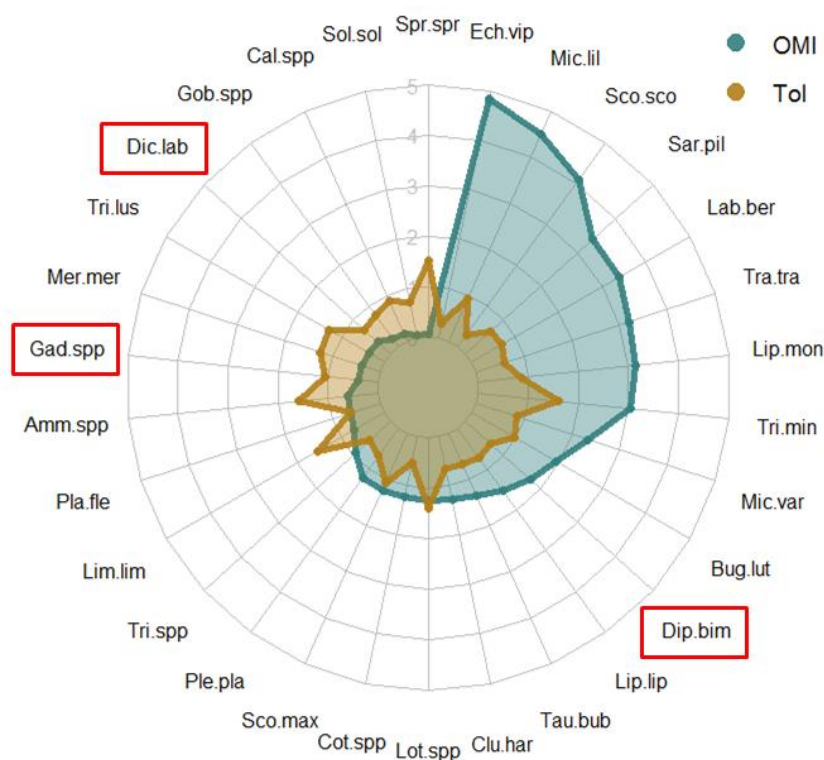


Figure 25 | Radarchart of OMI (marginality) and tolerance (Tol) values for the 30 taxa. Red boxes show non-significant taxa. Taxa abbreviations are given in Table 7.

Nine spatial ($R^2_{adj} = 0.104$), six seasonal ($R^2_{adj} = 0.309$) and four annual ($R^2_{adj} = 0.158$) variables were kept at the end of the MEM analysis. The variation

partitioning results (Figure 26) indicated that 44% of the total variation was explained, 33% by the seasonal effect, 16% by the year effect, 10% by the spatial effect and 13% by the environmental effect. In terms of pure effect, season explained the most (12%) followed by space (5%), environment (3%) and year (2%). A large amount of variation was shared between the different variables, in particular between year and season (8%) and season and environment (7%), while environment and year shared no variation, and environment and space only 1%.

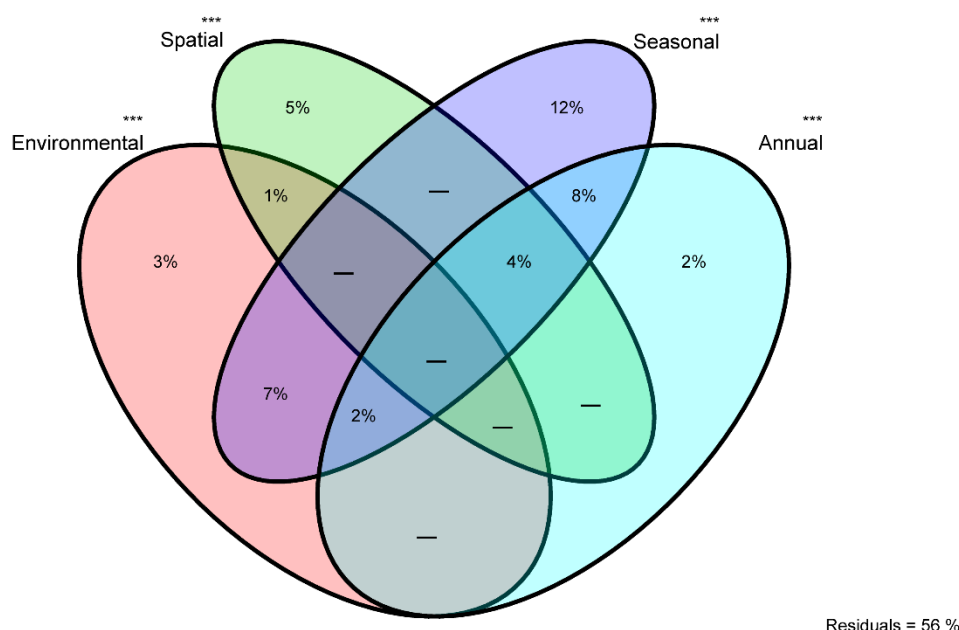


Figure 26 | Variance partitioning analysis. Venn diagram showing the percentage of variation explained in the larval assemblages by each of the spatial, environmental, seasonal and annual effects. *: $P < 0.001$.**

2.3 Discussion

The contribution of different sources of variation including environment, year, season and space on spring larval assemblages in the EEC was investigated. It appeared that the year and seasonal effects linked to environmental conditions were the main drivers explaining the observed variation whereas the spatial effect did not substantially change between the two periods. These aspects are discussed below.

In terms of spatial effect, the OMI analysis revealed that the number of species was positively correlated with the distance to the coast and depth. This could stem from the frontal zone impact on larval assemblages well described by Grioche and Koubbi (1997) and Grioche et al. (1999) who showed a spatial segregation of fish larvae assemblages between coastal and central waters in the south of the EEC due to a frontal zone acting more or less as a permeable barrier (depending on the tidal regime). This spatial pattern is accentuated by the ontogenic migration of several larval species from the offshore spawning grounds towards coastal nurseries (Grioche et al., 2001; Koubbi et al., 2006). However, the variance partitioning analysis also revealed that this spatial effect only accounted for 10% of the explained variation which is fairly low compared to inter-annual and seasonal effects.

In terms of seasonal effect, a temporal succession of larval taxa was observed during spring. Of the ten dominant taxa that were identified, some were characteristic of a particular month (e.g. herring in March, horse mackerel in June) whereas others were dominant throughout the season (i.e sprat). This temporal pattern can be explained by fish strategies in terms of spawning period, time duration of the larval development and foraging.

Sprat was clearly the most abundant larval fish species in the EEC throughout the spring season, which is in accordance with its protracted reproductive season (Alheit, 1988). Sprat is a batch spawner and females can lay nine batches of eggs during the reproductive season. It is also the most abundant adult fish species (Vaz et al., 2007) in the EEC and recently reached a record abundance in the North Sea (ICES, 2018). Moreover, the OMI analysis revealed a low marginality and a high tolerance meaning that sprat larvae were ubiquitous and tolerate a high range of temperatures allowing an extended spawning period. These findings are in agreement with previous studies showing that viable eggs of sprat can be found at a wide range of temperatures from 2°C to 20°C, although survival for North Sea sprat decreases at temperatures below 6°C (Thompson et al., 1981).

In March 2017, larval assemblages were dominated by six taxa included, apart from sprat, a combination of larvae from winter spawners (e.g. herring, plaice) and early-spring spawners (e.g. sole, dab, whiting). The presence of herring larvae is in accordance with the spawning time of the Downs spawning component of North Sea herring, which hatches off in the EEC mainly in December-January (Corten, 2013; Heath et al., 1997). The low abundances of herring, comparatively to those observed at the spawning time (ICES, 2018), as well as their large size, suggest that these larvae were survivors of the high mortality experienced during the first larval stages. This also confirmed that a relevant bulk of Downs larvae remains in March in the EEC as suggested by Dickey-Collas et al. (2009). These larvae should be considered if one wants to provide a recruitment index for Downs herring. Plaice is also a winter spawning fish and generally spawns in early January in the EEC (Fox et al., 2005). Despite its importance in this area, plaice larvae were not very abundant in March 2017,

representing only 0.4 percent of the assemblage. We suggest that in March, plaice larvae had reached advanced development stages leading, as flatfish species, to the end of the pelagic phase and the beginning of benthic life. Older flatfish larvae are therefore difficult to capture with a bongo net. On the contrary, young pelagic larvae are easily catchable nearby their offshore hatching area. These differences in terms of catchability between young and older flatfish larvae certainly led, in the OMI, to the plaice and flounder association with stations far from estuaries. Low abundances of plaice larvae might also be explained by the drifting pattern from the EEC towards the North Sea during ontogeny (Fox et al., 2005).

In April and May, larval assemblages that were observed in the different years became more diverse and were dominated by five other taxa including sole, dab, whiting, sandeels and dragonets. Sandeels and whiting were more abundant in April contrary to sole and dab. Dragonets were abundant in both months. While they represented only 0.9% of the March assemblage, they became the second most abundant taxa in April (9.5%) and May (12.5%) and finally reached 16.1% in June. Hence dragonets, like sprat, were not specially affiliated to late spring conditions but were ubiquitous and supported a high range of temperatures.

In June 1994 larval assemblages were different compared to the previous months. Apart from sprat and dragonets, horse mackerel was the second most abundant species and was associated with other less abundant species like lesser weever, solenette and mackerel in the OMI analysis. Their high marginality and low tolerance regarding high temperatures indicated a “warm water” affinity of these larvae hatching during late spring and early summer. Although, Russel (1976) and Clark (1920) reported that horse mackerel spawns in the EEC from July onwards, our results clearly suggest that spawning may start earlier.

In terms of inter-annual variations, our results from the Kruskal-Wallis tests combined to those from PCoA clearly showed a significative difference in larval abundances for April and May in the southern part of the EEC (except between Boulogne sur Mer and Belgium) between 2017 and the nineties. Indeed, the overall abundance of the dominant taxa was more than twice lower during 2017 (even when only considering April and May that were sampled every year) compared to the nineties. In the PCoA all taxa (including both generalists and specialists), except cottids, were clearly associated with the nineties' surveys, suggesting changes in the abundance of main larval fish species of the EEC ecosystem. From the Kruskal-Wallis test, we also found more significative differences between 1999 and the early nineties (at least in April) than with 2017. This suggests that changes in the level of larval abundances in the EEC might have already started at the end of the nineties.

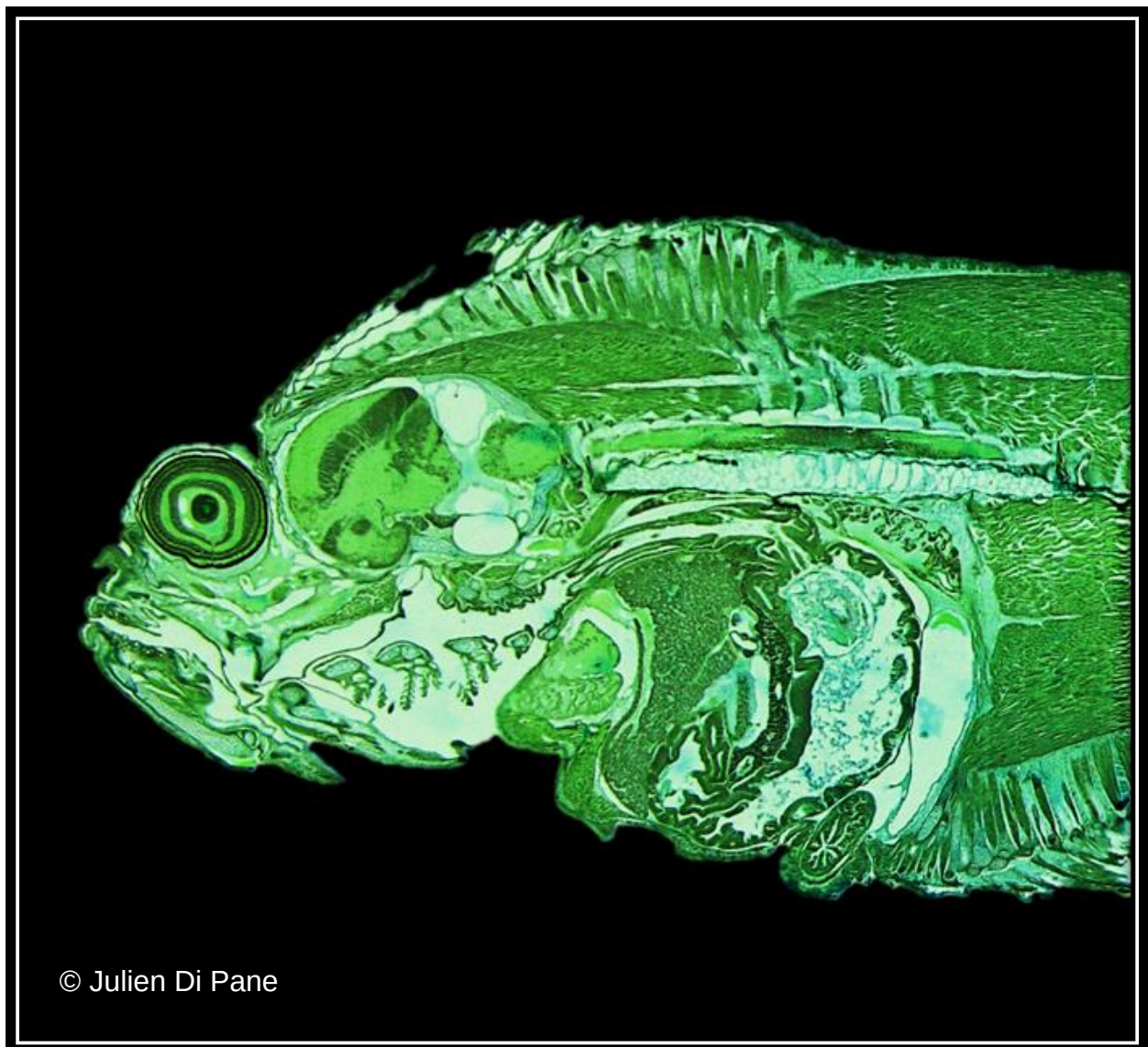
In terms of environmental effect, since there was no shared variation between year and environment, direct effects of temperature and salinity were not the only factors that could explain changes in larval assemblages. Auber et al. (2017) studied fish adult abundances in the EEC between 1980-1997 and 1998-2012. They showed a significant decrease of abundances in the recent period as we found with larval abundances. This was particularly the case for five taxa, namely sprat, dab, plaice, dragonets and gobies, which corresponds to the larval taxa more associated with the nineties surveys in the PCoA. In agreement with our results, they found cottids to be one of the rare adult fish taxa more abundant in the 1998-2012 period. Adults of all the other taxa (except horse mackerel) were also less abundant during the 1998-2012 period (but this was not significant). Concerning horse mackerel, the discrepancy between larvae, more associated with the nineties, and adults, more associated to the recent period, is potentially due to the fact that in 2017 no survey

was conducted in June whereas June has been shown to be relevant for larval occurrence of this species.

Auber et al. (2017) hypothesized that these changes between the two periods were linked to the AMO, which reflects the variation of sea surface temperature in the North Atlantic Ocean at a multidecadal scale. In the middle of the nineties, the EEC experienced an increase of temperature due to a shift from a cold to a warm phase of the AMO (Drinkwater et al., 2014). In the English Channel, the AMO and the Russell Cycle vary together (Edwards et al., 2013; Russell et al., 1971). The Russell cycle is a well-known phenomenon illustrating the influence of climate variations (warm and cool conditions) on marine plankton at the decadal scale, which leads to changes in fish distribution and abundances. A shift in 1998 in dinoflagellate and dominant zooplankton groups has been shown by Beaugrand (2003) and Alvarez-Fernandez et al. (2012) who established a link with a rapid change in environmental conditions. Several studies also found that plankton and fish larvae were more abundant during a cold period than during a warm period of the AMO (Alheit et al., 2014; Gushing and Dickson, 1977; Southward et al., 1988). Since fish larvae survival highly relies on food availability, it could have been impacted by recent changes in plankton communities, due to increasing surface temperature. Higher temperatures also enhance larval growth rates (Pepin, 1991) which can in turn increase mortality due to starvation (Montero-Serra et al., 2015). As a consequence, a lower survival rate during the larval phase could have led to fewer adults as observed by Auber et al. (2017). An alternative hypothesis is that lower larval abundance could come from a more northward distribution and spawning location in response to warming (Jansen and Gislason, 2011; Montero-Serra et al., 2015). While adults' abundances, mainly small bodied species, decreased drastically in EEC (Auber et al., 2017; McLean et

al., 2018b), a northward increase of these species in the connected ecosystem of the south bay of North Sea appeared simultaneously due to a rapid sea surface warming (McLean et al., 2018a). This assumption would mean that the EEC's spawning potential has rapidly declined during the climate oscillation of the end of nineties.

Chapitre 3: Evaluation de la condition *in situ* de la sole commune (*S. solea*) par approche histologique



1 Comparaison de la condition histologique de la sole de Manche orientale entre deux périodes contrastées

Dans le chapitre précédent, une forte diminution des abondances larvaires de la plupart des espèces printanières a été montrée entre les années 90 et 2017 en MO. Selon la littérature (e.g Auber et al., 2015, 2017; McLean et al., 2018a, 2018b), les modifications environnementales engendrées par un changement de cycle de l'AMO à la fin des années 90 pourraient expliquer de tels changements en ce qui concerne les populations adultes. Cependant, une question se pose : est-ce les faibles abondances de reproducteurs qui ont entraîné celles des stades larvaires ou est-ce les changements environnementaux qui ont conduit à une baisse du taux de survie des larves, impactant ainsi l'abondance des adultes via le recrutement.

Parmi les espèces ayant subi ce déclin, la sole (*S. solea*) fait l'objet d'une attention particulière depuis trois ans dans le cadre du projet SMAC (Sole de Manche Est, Amélioration des Connaissances pour une meilleure gestion, 2016-2019). La sole de MO est un stock à forte valeur économique (Gibson et al., 2014). Malgré une gestion du stock proche du Rendement Maximum Durable (RMD), on observe depuis 2011 un faible recrutement accompagné par une baisse de la biomasse de reproducteurs se situant désormais autour de la limite basse à ne pas dépasser (Blim) (ICES, 2018).

Si on considère les hypothèses énonçant les variations du recrutement comme déterminées par les premières phases de vie des poissons, on peut supposer que la baisse du recrutement observée chez la sole pourrait découler d'une baisse du taux de survie en lien avec de mauvaises conditions des stades larvaires. Les moments les plus sensibles pour les larves seraient, en outre, lors de la période critique telle que définie par Hjort (1914) et présentée en introduction de la thèse.

De précédents travaux réalisés en 1995 avaient pour but de définir les abondances larvaires de sole en MO durant le printemps (Grioche, 1998). Des analyses de condition par approche histologique avaient été réalisées sur cette espèce selon la méthode de notation par grades de la condition larvaire (Boulhic, 1991) (cf. chapitre 1). Les campagnes d'échantillonnage du printemps 2017 permettent ainsi de comparer ces conditions larvaires entre deux périodes espacées par plus de 20 ans.

Les objectifs de la première partie de ce chapitre tendent, grâce à des méthodologies de terrain et de laboratoire identiques entre les périodes, à (1) comparer les niveaux d'abondances des différents stades de développement larvaire de la sole entre chaque campagne ; (2) évaluer la condition larvaire et définir la ou les périodes critiques des larves de sole ; (3) déterminer les facteurs de variation de la condition et (4) étudier les changements de ces facteurs et de leur impact sur la condition des larves de soles entre les deux périodes.

1.1 Traitements des données

1.1.1 Préparation des données

Les données utilisées comprennent des données environnementales, d'abondances et de conditions des larves de soles capturées durant les campagnes REISE 1, REISE 2, REIVE 1, PHYCO et REIVE 2 (voir chapitre 1 pour les dates de chaque campagne). Les variables environnementales de température (°C), salinité et fluorescence (unit. fluo.), les variables géographiques de profondeur (m), bedstress ($N.m^{-2}$) et distance à la côte (degrés de latitude) et les abondances zooplanctoniques ($ind.m^{-3}$) ont été utilisées. Les données ont été analysées grâce au logiciel R (R core team, 2019). La normalité (test de Shapiro) et l'homoscédasticité

(test F) des données ont été vérifiées afin de choisir les tests statistiques (i.e paramétrique ou non paramétrique) appropriés.

Les abondances (nombre d'individus. 100m^{-3}) de larves de sole et les proportions des cinq stades de développement ont été cartographiées (voir chapitre 1, Figures 5-7) et représentés sous la forme de diagrammes en boîtes. Pour chaque campagne, les abondances totales, i.e tous stades confondus, ont été calculées pour les stations où les larves de soles étaient présentes. Les différences d'abondances non nulles par station entre les campagnes ont ensuite été comparées par une ANOVA suivi d'un test post hoc de Tukey.

Pour l'étude de la condition par approche histologique, les proportions des 6 grades de Boulhic (1991) en fonction du stade de développement ont été calculées.

1.1.2 Relation condition et environnement

L'étude de l'influence des variables environnementales et géographiques sur la condition larvaire a été restreinte aux larves de stade 2. Ce stade correspond à la phase où les larves sont les plus abondantes et à la période où elles sont les plus sensibles aux fluctuations environnementales et au jeûne (Grioche, 1998).

Les moyennes de longueur standard (SL ; mm) de ces larves en fonction des campagnes et des grades histologiques ont été comparées par un test d'ANOVA, Les variables environnementales et géographiques ayant un effet significatif sur les grades ont été sélectionnées par un test non paramétrique de Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Les valeurs des variables explicatives conservées ont ensuite été divisées en quatre classes d'équi-fréquences et le nombre d'individus de chacun des six grades dans chaque classe a ensuite été calculé. Une AFC (Analyse Factorielle des Correspondances) a ensuite été réalisée sur un tableau de contingence composé des classes des variables en colonne (n colonnes = n variables sélectionnées X 4) et

des grades en lignes ($n=6$) afin de relier les facteurs environnementaux à la condition larvaire. Une CAH (Classification Ascendante Hiérarchique) a ensuite été réalisée à partir des coordonnées des différentes classes sur les trois premiers axes de l'AFC. Une matrice de distance euclidienne a été calculée à partir de ces coordonnées et le critère d'agrégation de Ward a été utilisé afin de regrouper les classes des variables en fonction de leur similarité. Le nombre de groupe a été choisi selon la méthode « GAP statistic » (Tibshirani et al., 2001). Les Valeurs Indicatrices (IndVals, Dufrêne et Legendre, 1997) ont ensuite été calculées pour déterminer à quel groupe de classes environnementales les différents grades pouvaient être reliés (package *labdsv* ; Roberts, 2019). La Indval d'un grade « x », en relation avec un groupe « y » est définie pour chaque groupe tel que :

$$\text{IndVal}_{xy} = \text{Specificity}_{xy} * \text{Fidelity}_{xy} * 100$$

Avec Specificity_{xy} la proportion du groupe « y » avec le grade « x », et Fidelity_{xy} la proportion du nombre d'individus de grade « x » qui sont dans le groupe « y ». Les IndVals varient de 0 à 1, en accord avec le niveau d'association entre « x » et « y ». La significativité des IndVals a été testée par test de permutation (999 permutations) pour identifier les associations grade/groupe significatives. Seules les IndVals significatives (seuil de significativité fixé à 10% pour cette analyse) et supérieures à 0,3 (Dufrêne et Legendre, 1997 ; Legendre et Legendre, 2012) de chaque grade selon leur groupe d'appartenance défini par la CAH ont été considérées.

1.1.3 Comparaison des conditions des larves de stade 2 entre 1995 et 2017

Les changements de spécificité environnementale des grades de condition entre les années 1995 et 2017 ont été étudiés grâce aux indices WitOMI (Within Outlying Mean Index ; package *subniche* ; Karasiewicz et al., 2017). La WitOMI calcule des paramètres supplémentaires basés sur l'analyse OMI (c.f. chapitre 2.2)

permettant l'étude d'une communauté entière à différentes échelles temporelles ou spatiales. Elle a été adaptée ici pour comprendre la contrainte environnementale sur la condition de larves de sole. L'idée est d'observer au sein des stations échantillonnées où la sole a été rencontrée, la marginalité des différents grades de condition par rapport à l'enveloppe environnementale de la zone échantillonnée. Dans un premier temps, la WitOMI décompose la niche écologique totale (E) en sous-niches (E_k) selon des facteurs temporels ou spatiaux. Dans notre cas, E correspond à l'enveloppe environnementale totale (i.e toutes les conditions environnementales rencontrées dans les stations analysées) et les deux sous-niches (appelées sous-ensembles dans cette étude) correspondent à l'habitat occupé par les soles dans les années 1995 et 2017 dans les stations échantillonnées. Cette analyse fournit des valeurs pour chaque grade, dans chaque sous-ensemble, appelées paramètres et qui sont calculés par rapport à l'origine (G), soit le point rassemblant l'ensemble des conditions environnementales moyennes rencontrées. Les paramètres ainsi obtenus (marginalité (WitOMIG) et tolérance (TolG)) du sous-ensemble d'un même grade trouvé dans différents sous-ensembles sont comparés à G (l'origine commune de tous les sous-ensembles). Les paramètres sont également calculés par rapport à l'origine du sous-ensemble (G_K) qui est la représentation des conditions environnementales moyennes rencontrées dans chaque sous-ensemble indépendamment. Les valeurs ainsi obtenues (WitOMIG_K et TolG_K) permettent de savoir au sein de chaque sous ensemble, le niveau de marginalité et de tolérance de chaque grade. Plus une valeur de marginalité est élevée (WitOMIG ou WitOMIG_k), plus le grade sera spécifique à certaines conditions environnementales et sera donc "spécialiste". De même, plus une valeur de tolérance (TolG ou TolG_k) sera élevée, plus le grade se rencontrera dans une large gamme de variations

environnementales, signifiant qu'on peut le retrouver à plusieurs endroits. Enfin, cette analyse fournit également une valeur de tolérance résiduelle, qui plus elle sera élevée, plus le lien entre la distribution du grade et les paramètres environnementaux sera faible.

Ainsi, seules les données issues des campagnes d'avril et mai 1995 et 2017, aux stations où des soles ont été analysées, sont prises en compte dans l'analyse. Pour cette analyse, nous avons utilisé les variables environnementales non persistantes (qui changent au cours du temps) ayant un effet significatif sur les grades (température et fluorescence), ainsi que l'abondance de larves de soles de stade 2 (comme proxy de la compétition intraspécifique) et l'abondance zooplanctonique totale (comme proxy de la disponibilité alimentaire). L'analyse a commencé par la réalisation d'une ACP sur les variables sélectionnées. Une analyse OMI a ensuite été réalisée pour coupler les données de l'ACP aux abondances log-transformées des grades dans chaque station. Au préalable, le nombre de chaque grade par station a été pondéré par les abondances de larves de stade 2 rencontrées à la station. Un test de permutation de Monte Carlo (999 permutations) a été effectué afin de déterminer la significativité de l'OMI. Enfin, la significativité des variables influençant la marginalité des grades au sein des deux sous-ensembles (1995 et 2017) a été testée par un test de permutation (999 permutations). Les sous-ensembles et la marginalité des grades dans chaque sous ensemble ont été représentés.

1.2 Résultats

1.2.1 Distribution et abondances des larves de sole

Les abondances et la proportion des différents stades de développement des larves de sole ont été cartographiées (Figure 27) et les abondances non nulles par stades représentées sous la forme de boxplots (Figure 28).

En avril 1995, aucune larve de stade 1 n'a été capturée et les larves de stade 2 dominaient largement les assemblages de sole. En mai 1995, les larves de stade 2 étaient plus nombreuses et dominaient toujours mais les stades plus âgés étaient également en plus grande proportion, notamment aux stations les plus côtières. Les abondances rencontrées en mars 2017 étaient les plus faibles et seules des larves vitellines (stade 1), pré-flexion (stade 2) et quelques stades en flexion de la notochorde (stade 3) ont été capturées, majoritairement au niveau des stations les plus au large. En avril 2017, les abondances étaient plus élevées et quelques individus de stade 4 (postflexion) ont été capturés. Les abondances les plus fortes ont été rencontrées au niveau des estuaires de la Somme et de l'Authie où les stades 2 dominaient. Des larves de sole étaient aussi présentes le long des côtes anglaises, en abondance relativement faible. En mai 2017, les abondances étaient globalement plus élevées qu'en avril et des larves de stade 5 (yeux sur la même face) ont été capturées. Les plus fortes abondances observées pour l'ensemble des stades se trouvaient aux stations les plus côtières au niveau des trois estuaires. Peu de larves ont été capturées au niveau de la baie de Seine.

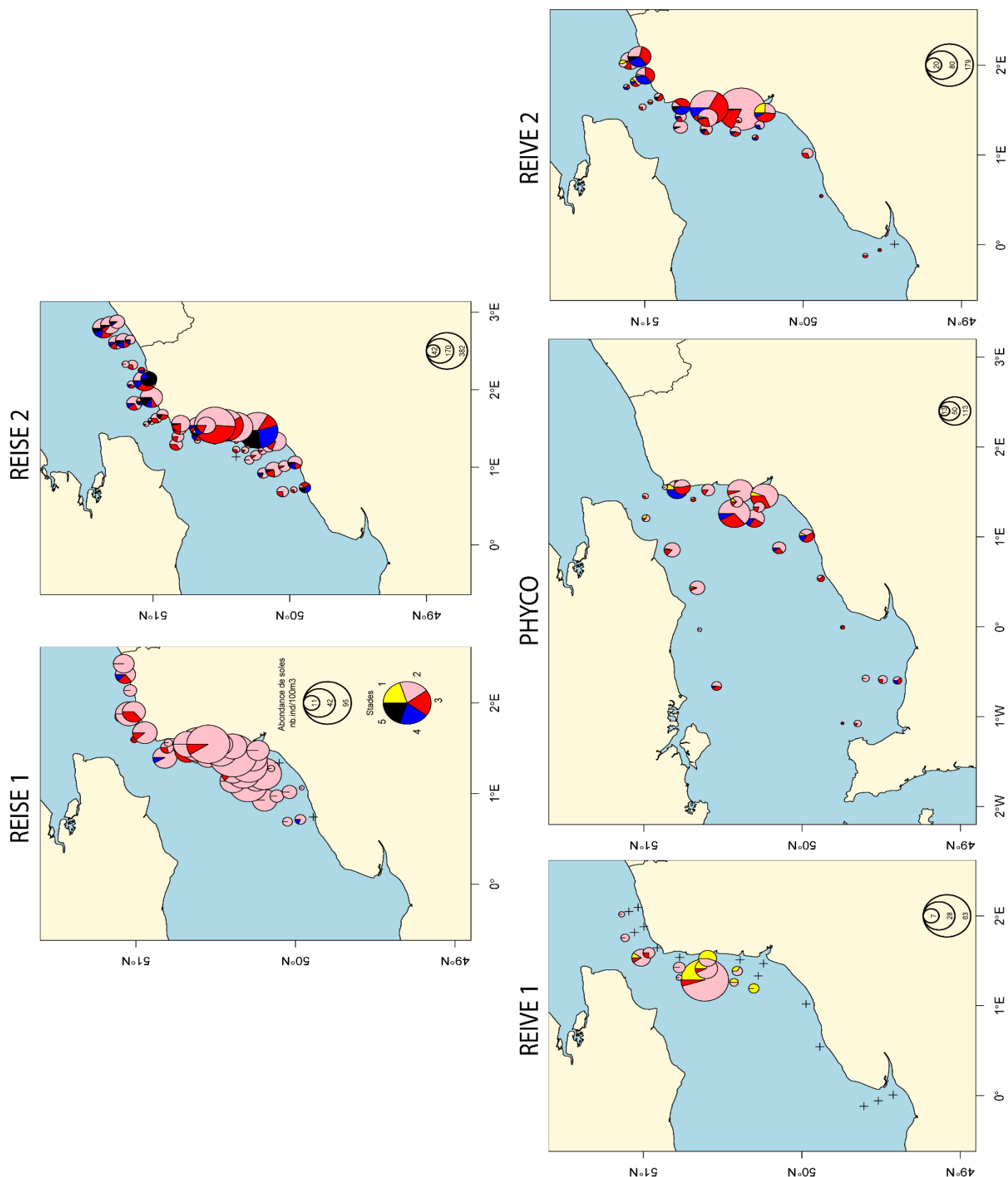


Figure 27 | Abondances des larves de soles et proportion de chacun des stades de développement pour les stations échantillonnées au cours des cinq campagnes. Les croix signifient qu'aucune larve de sole n'a été capturée dans la station. n.b : les échelles d'abondance ne sont pas les mêmes entre les campagnes par soucis de visibilité.

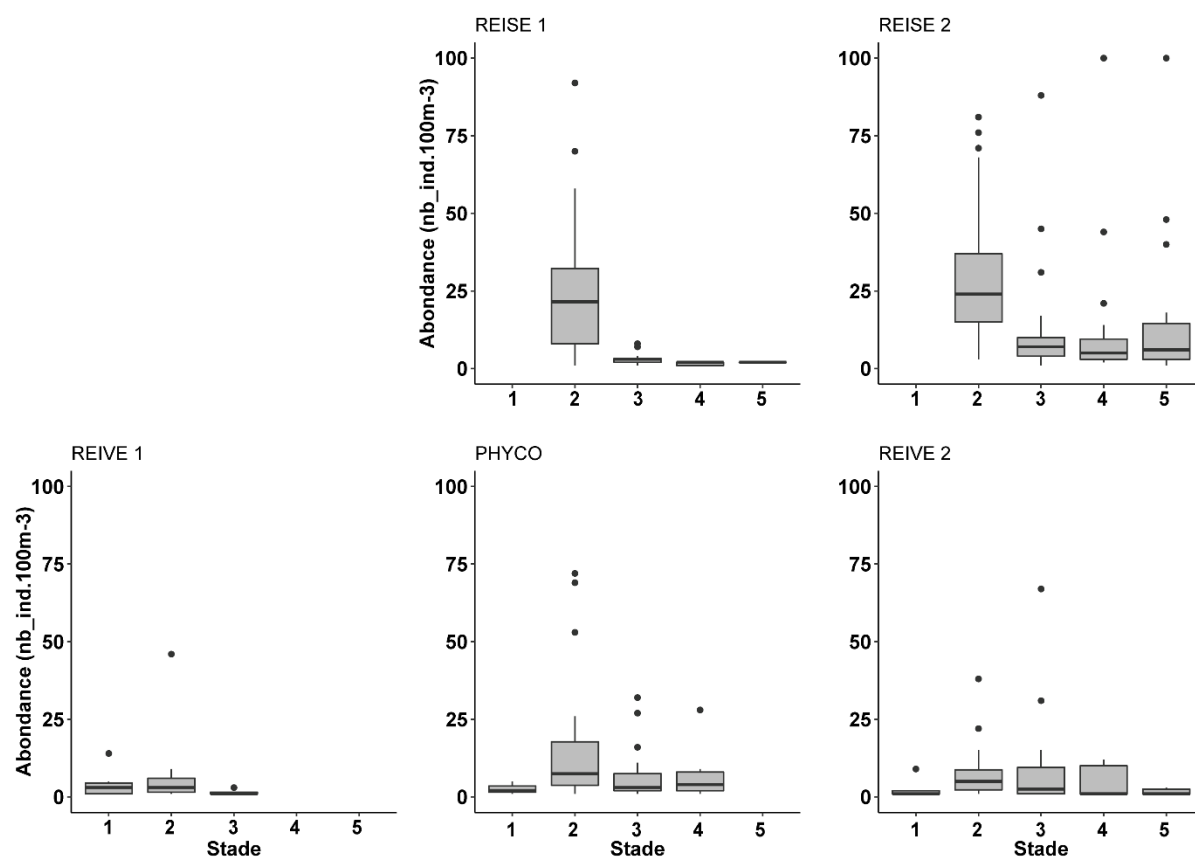


Figure 28 | Distribution des abondances des différents stades de développement (1-5) des larves de soles pour les cinq campagnes.

Les abondances totales (tous stades confondus) de sole par station ont été comparées entre les campagnes. Un effet de la campagne sur les abondances a été observé (ANOVA : $F=13,27$; $df = 4$; $P < 0,01$). Les résultats des différences mises en évidence par le test post-hoc de Tukey ont été renseignés dans le Tableau 9.

Tableau 9 | Proportion, abondance moyenne et fréquence d'occurrence (pourcentage de stations avec présence) des différents stades de développement pour les cinq campagnes. Les résultats du test posthoc (Tukey) sur les abondances ont été annotés où une lettre identique signifie une absence de différence significative.

Campagne	Stade	Proportion (%)	Abondance moyenne (nb_ind.100m ⁻³) ± SD	Fréquence d'occurrence (%)	Test de comparaison des abondances (test de Student)
REISE 1	1	-	-	-	A
	2	94,1	24,5 ± 20,7	93,3	
	3	4,8	3,3 ± 2,3	35,6	
	4	0,7	1,6 ± 0,5	11,1	
	5	0,4	2 ± 0	4,4	
REISE 2	1	-	-	-	B
	2	63,6	38,9 ± 44,3	95	
	3	17,9	13,6 ± 25	76,7	
	4	9,2	10,4 ± 18,5	51,7	
	5	9,3	14,1 ± 22,2	38,3	
REIVE 1	1	25	4,1 ± 4,6	26,9	C D
	2	69,8	7,4 ± 13,1	42,3	
	3	5,2	1,5 ± 1	15,4	
	4	-	-	-	
	5	-	-	-	
PHYCO	1	3	2,6 ± 1,7	25,9	A D
	2	63,8	16,2 ± 20,2	88,9	
	3	24,6	6,5 ± 8,2	85,2	
	4	8,7	7,6 ± 9,5	25,9	
	5	-	-	-	
REIVE 2	1	2,4	1,4 ± 2,8	38,5	A D
	2	54,7	14 ± 29,9	88,5	
	3	31,5	8,5 ± 14,9	84,6	
	4	9,5	4,3 ± 4,7	50	
	5	2	1,7 ± 1	26,9	

1.2.2 Variations ontogéniques de la condition larvaire

Les proportions des six grades de Boulhic par stade de développement pour les 559 larves de sole sont représentées sur la Figure 29. Une amélioration de la condition a été observée du stade 2 au stade 4, suivi d'une ré-augmentation de la proportion de larves en mauvaise condition pour les stades 5.

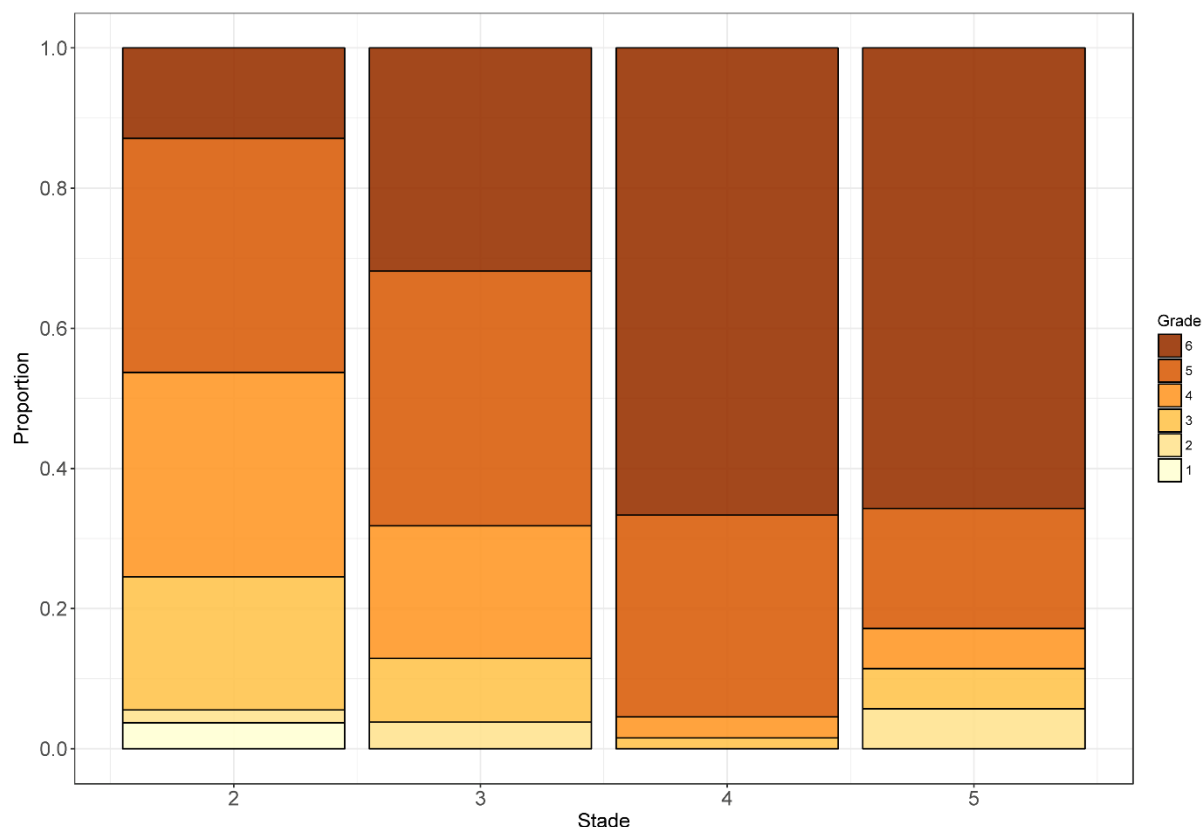


Figure 29 | Proportion des six grades de condition (Boulhic, 1991) en fonction du stade de développement, toutes campagnes confondues.

Les larves de stade 2 comprenaient 3,7% de larves en grade 1, 1,8% en grade 2, 19% en grade 3, 29,1% en grade 4, 33,4% en grade 5 et 12, 9% en grade 6. Pour les larves de stade 3, aucun individu de grade 1 n'a été trouvé. Les grades 2 représentaient 3,8%, les grades 3 9,1%, les grades 4 18,9%, les grades 5 36,4% et les grades 6 une proportion de 31,8%. Concernant les larves de stade 4, aucun individu des grades 1 et 2 n'a été capturé, 1,5% étaient des grades 3, 3% étaient des grades 4, 28,8% étaient des grades 5 et 66,7% étaient des grades 6. Pour les stades 5, aucune larve de grade 1 n'a été observée. Les grades 2, 3 et 4 représentaient tous trois 5,7% des larves analysées alors que le grade 5 représentait 17,1% et le grade 6 une proportion de 65,7%.

1.2.3 Variations de la condition des stades 2

Les proportions des différents grades de Boulhic (1991) pour les larves de stade 2 analysées au cours des différentes campagnes ont été représentées en annexe 2.

1.2.3.1 Distribution des longueurs standards

Les longueurs standards (SL) des soles de stade 2 ont été comparées entre les campagnes (Figure 30A). Le résultat de l'ANOVA a montré qu'au moins une des campagnes avait des valeurs significativement différentes des autres ($P < 0,01$). Le test post-hoc Tukey a indiqué que seulement les larves de REIVE 1 (mars 2017) avaient une taille significativement plus petite que celles de toutes les autres campagnes. L'analyse de la comparaison des moyennes de la taille en fonction du grade a révélé un effet significatif (ANOVA : $P < 0,01$). Même si les tailles ne sont

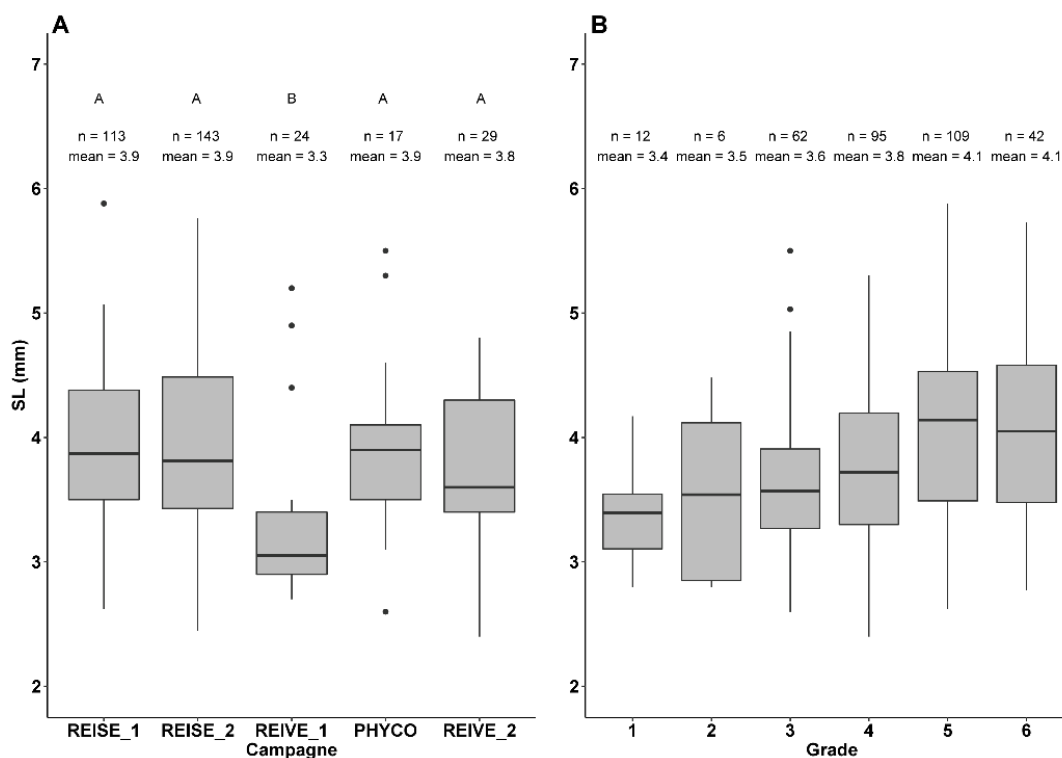


Figure 30 | Distribution de la longueur standard (SL) des larves de sole de stade 2 en fonction (A) des différentes campagnes et (B) des grades de condition. Le nombre d'individus et la SL moyenne par facteur sont indiqués. Mean : moyenne.

pas toutes significativement différentes entre les grades, on observe une tendance positive entre le grade et la taille moyenne (Figure 30B).

1.2.3.2 Influence de l'environnement

L'effet des variables environnementales et géographiques sur la proportion des grades a été testé par un test de Kruskal-Wallis. Concernant les variables environnementales, la température et la fluorescence ont montré un effet significatif sur les grades ($P = 0,03$ et $0,04$ respectivement). Aucun effet significatif de la salinité sur le grade n'a été mis en évidence ($P = 0,19$). Parmi les variables géographiques, seules la distance à la côte ($P = 0,02$) et le bedstress ($P < 0,01$) ont montré un effet significatif sur le grade contrairement à la profondeur ($P = 0,67$).

Les variables ayant montré un effet significatif sur les grades ont été divisées en classes d'équi-fréquences suivant leurs quartiles (Tableau 10) afin de réaliser ensuite une AFC.

Tableau 10 | Gammes de valeurs des classes des variables environnementales suivant les différents quartiles. Q25 : 0-25% ; Q50 : 25-50% ; Q75 : 50-75% ; Q100 : 75-100%.

	Q25	Q50	Q75	Q100
Temperature (°C)	[9,17_9,38]	(9,38_10,1]	(10,1_10,6]	(10,6_12,6]
Fluorescence	[0,52_4,89]	(4,89_13,6]	(13,6_21,6]	(21,6_36,3]
Dist. Côte (degrès)	[0,01_0,05]	(0,05_0,13]	(0,13_0,2]	(0,2_0,3]
Bedstress (m.N ⁻¹)	[0,48_0,61]	(0,61_0,96]	(0,96_1,1]	(1,1_3]

De manière à savoir à quelles classes environnementales les différents grades étaient significativement associés, une CAH a été réalisée sur une matrice de distance euclidienne des coordonnées des classes sur les trois premiers axes de

l'AFC (83% de variance expliquée). Trois groupes de classes environnementales ont été retenus (Figure 31, droite).

L'AFC construite sur les effectifs de chaque grade dans les différentes classes de variables est présentée en Figure 31 (gauche). Les deux premiers axes représentent 67% de la variance expliquée. Les IndVals significatives ($P < 0,1$ pour cette analyse) et supérieures à 0,3 de chaque grade pour leur groupe d'appartenance défini par la CAH ont été compilés dans le Tableau 11.

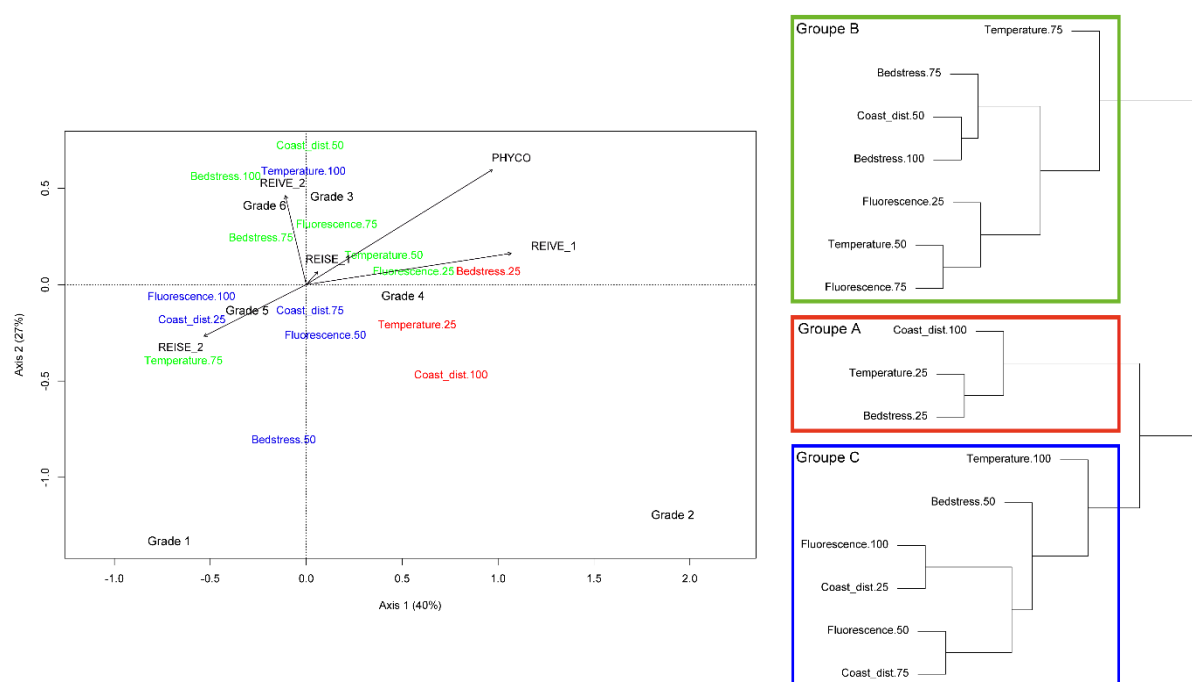


Figure 31 | Droite; Résultats de la CAH sur les coordonnées des quantiles de variables environnementales. Gauche; Plan factoriel des deux premiers axes de l'AFC sur les effectifs des grades dans chaque classe de variables environnementales. La couleur des classes a été réalisée selon les résultats de la CAH. Les campagnes ont été ajoutées en variables supplémentaires.

Tableau 11 | Tableau des grades retenus dans l'AFC selon leur valeur indicatrice (IndVal > 0,3 et P < 0,1) et selon leur groupe d'appartenance.

Groupe	Grade	IndVals	P
A	2	0,61	0,04
	4	0,44	<0,01
B	3	0,44	0,01
C	5	0,38	0,05
	6	0,41	0,09

Le groupe A est composé des stations les plus éloignées de la côte, ayant de faibles valeurs de température et de bedstress. Les grades associés significativement à ce groupe sont les grades 2 et 4. Le groupe B présente des températures intermédiaires et des valeurs de fluorescence faibles à intermédiaires. Il comprend également des valeurs de bedstress élevées et de distance à la côte moyenne. Ce groupe est associé au grade 3. Le groupe C comprend les valeurs de température et de fluorescence les plus élevées ainsi que des valeurs de bedstress moyennes et de distance à la côte faibles et intermédiaires. Les grades 5 et 6 sont associés significativement au groupe C. Le grade 1 n'est associé significativement à aucun des groupes.

1.2.3.3 Comparaison 1995 et 2017

Afin de comparer l'influence des différences de conditions environnementales entre 1995 et 2017 sur la distribution des grades, les données issues de mars 2017 n'ont pas été prises en compte. Seules les données d'avril et mai 1995 et 2017 ont été gardées. De même, seules les variables environnementales ayant pu varier entre les deux périodes ont été gardées alors que les variables géographiques ont été écartées.

La proportion des différents grades en fonction des années est présentée en Figure 32. Un test de χ^2 d'indépendance a montré une différence significative de la proportion des différents grades en fonction de l'année ($P < 0,05$).

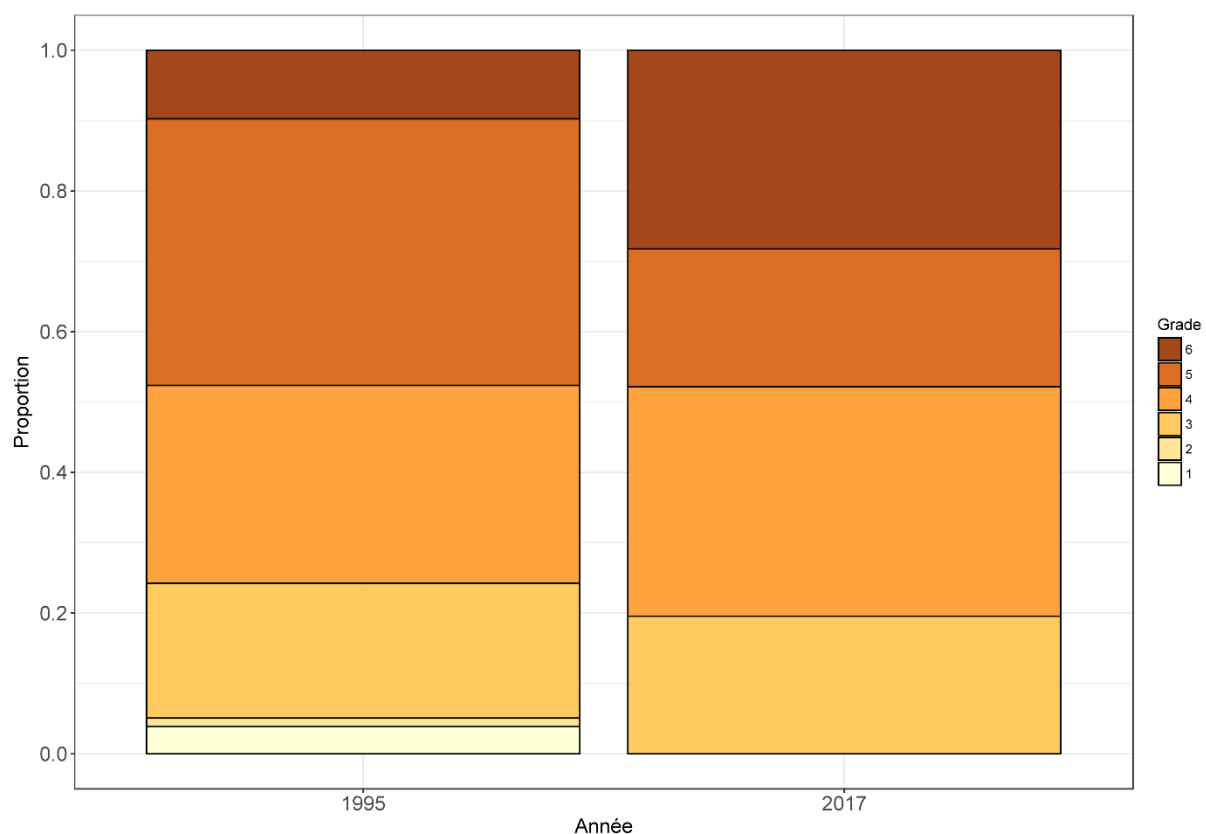


Figure 32 | Proportion des six grades de condition chez les larves de sole de stade 2 en fonction de l'année pour les campagnes d'avril et mai.

En 1995, le grade 1 représentait 3,9% des larves de stade 2 analysées, le grade 2 une proportion de 1,2%, 19,1% pour le grade 3, 28,1% pour le grade 4, 37,9% pour le grade 5 et le grades 6 une proportion de 9,8%. En 2017, aucune larve des grades 1 et 2 n'a été capturée au mois d'avril et mai. Le grade 3 représentait une proportion de 19,6%, le grade 4 32,6%, le grade 5 une proportion de 19,6% et le grade 6 représentait 28,3% des larves de stade 2 analysées.

Étant peu nombreux, les effectifs des grades 1 et 2 ont été regroupés (Grade 1.2). La significativité de l'analyse OMI a été testée (test de permutation de Monte-Carlo ; $P < 0,01$). Pour tous les grades, à l'exception du grade 3, la distance par rapport à l'origine (environnement moyen) était significative et suggère une influence de l'environnement (jeu de variables utilisées) sur la condition (Tableau 12). Parmi l'inertie totale expliquée par l'OMI (56%), les deux premiers axes expliquent 93% de l'inertie projetée (72% et 21% respectivement). Le positionnement du grade 1.2 est caractérisé par la plus forte marginalité (i.e forte déviance par rapport à l'origine) et tolérance (i.e dispersion). Le grade 1.2 présente également la valeur de tolérance résiduelle la plus faible ce qui suggère un fort lien entre l'environnement et la distribution du grade. A l'opposé, les grades 3, 4, 5 et 6 sont distribués plus uniformément (faibles indices de marginalité) et sont caractérisés par des indices de tolérance résiduelle élevés (>50%) qui indiquent un lien faible entre la distribution de ces grades et les paramètres environnementaux utilisés.

Tableau 12 | Paramètres et significativité (test de permutation, 999 permutations) de l'enveloppe environnementale obtenue par l'OMI pour les cinq grades.

Grade	Marginalité	Tolérance	Tolérance résiduelle	% Marginalité	% Tolérance	% Tolérance résiduelle	P
1,2	1,74	3,19	3,01	21,9	40,2	37,9	0,02
3	0,17	1,54	3,04	3,6	32,4	64,1	0,1
4	0,18	1,62	2,57	4,1	37,1	58,9	0,01
5	0,28	0,80	2,83	7,1	20,5	72,4	<0,01
6	0,47	2,15	3,06	8,3	37,8	53,9	0,02

Afin de comparer la distribution en grades de condition entre les deux périodes d'intérêt (1995 vs 2017), des sous-ensembles ont été définis en prenant en compte les conditions environnementales de chaque sous-ensemble (Analyse WitOMI). Pour les deux périodes, l'enveloppe environnementale de chaque sous-ensemble (défini par G_k) était significativement différente des conditions moyennes ($P < 0,01$) (Figure 33). Le sous-ensemble de 1995 était plus large que celui de 2017. La position des deux sous-ensembles était influencée par les mêmes variables (i.e température et fluorescence) de manière significative. Le nombre de larves de sole de stade 2 et l'abondance zooplanctonique (Ab_Plancton) avaient des valeurs moyennes pour les deux sous-ensembles qui n'étaient pas significativement différentes de la valeur moyenne globale (Tableau 13).

Tableau 13 | P-value des variables sur la position des sous-ensembles. (Test de permutation, 999 permutations).

Année	Température	Fluorescence	Nb 100m ³	Ab Plancton
1995	<0,01	<0,01	0,36	0,42
2017	<0,01	0,02	0,27	0,52

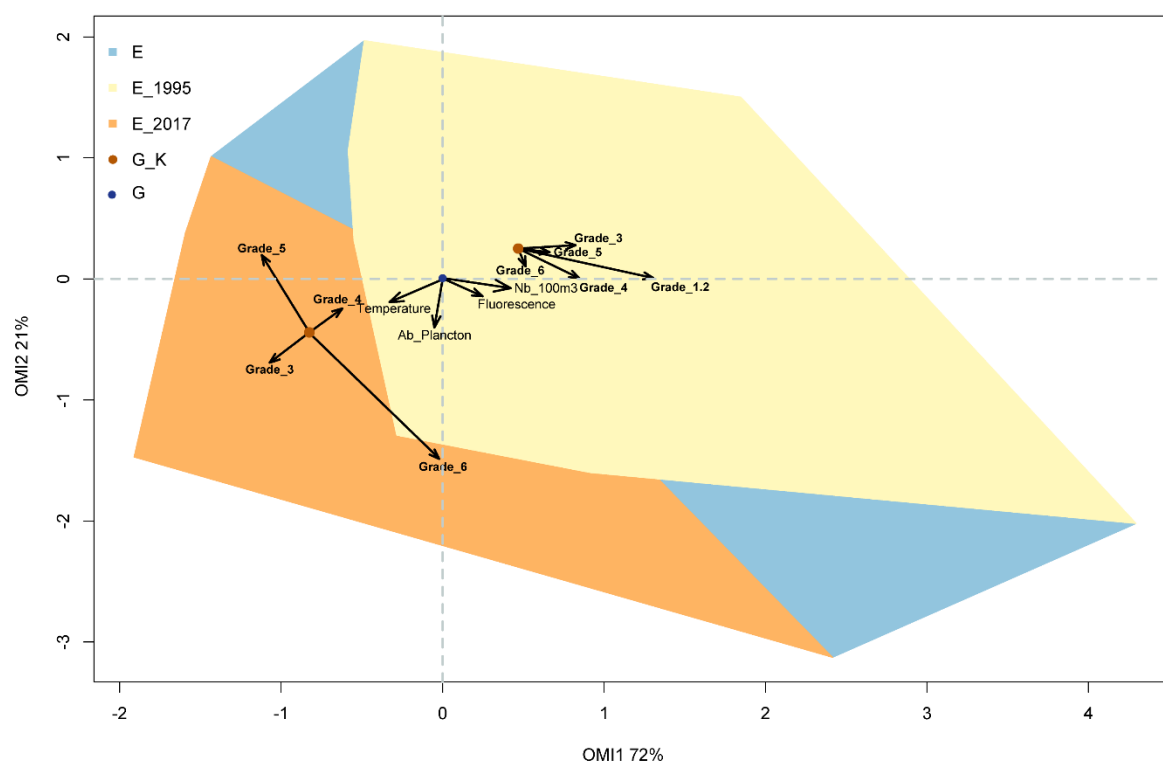


Figure 33 | Représentation des résultats de l'analyse WitOMI. Les sous-ensembles des grades pour les deux années ont été représentés (E_1995 et E_2017) au sein de l'environnement total (E). Pour chaque sous-ensemble le barycentre de la distribution est indiqué (G_K). Pour chaque grade au sein d'un sous-ensemble, la longueur des flèches correspond à sa marginalité par rapport à G_K. Les poids canoniques, des variables environnementales, issus de l'OMI ont été ajoutés.

Le sous-ensemble de 2017 était significativement caractérisé par rapport à celui de 1995 par des températures plus élevées, et une fluorescence plus faible. Tous les grades au sein des deux sous-ensembles sont significatifs (test de permutation de Monte-Carlo ; $P < 0,01$). Les données fournies par la WitOMI ont été compilées dans le Tableau 14. Les valeurs de marginalité (WitOMIG) des grades par rapport à l'environnement moyen total (G, origine des axes) sont différentes entre les années, montrant un changement de position du sous ensemble avec des valeurs plus faibles en 1995. Les valeurs de tolérance (ToIG) suivent la même tendance.

Elles démontrent un changement de largeur de la sous-niche des grades entre les années avec des valeurs plus élevées en 1995 excepté pour le grade 6. La marginalité des grades (WitOMIG_K) par rapport à l'habitat moyen des sous-ensembles (G_K) indique également des variations de préférence d'habitat entre les années. En 1995, le grade à plus forte WitOMIG_k était les grades conjoints 1-2 tandis qu'en 2017, les grades à plus forte WitOMIG_k étaient les grades 5 et 6. Les valeurs de tolérance au sein de chaque sous-ensemble (TolG_k) montrent des variations de dispersion entre les grades d'un sous-ensemble mais également entre mêmes grades dans les deux sous-ensembles. Pour 1995, c'est le groupe de grades 1-2 qui a la plus forte tolérance du sous ensemble tandis que pour celui de 2017 c'est le grade 6 qui possède la plus forte dispersion.

Tableau 14 | Paramètres de marginalité (WitOMIG et WitOMIG_K) et de tolérance (TolG et TolG_K) obtenus par l'analyse WitOMI pour les différents grades en fonction des deux années.

Année	Paramètre	Grade 1.2	Grade 3	Grade 4	Grade 5	Grade 6
1995	WitOMIG	1,74	0,84	0,79	0,61	0,66
	TolG	3,19	0,64	0,92	0,44	0,41
	WitOMIG_k	1,07	0,14	0,22	0,08	0,14
	TolG_k	4,28	1,65	2,09	1,49	1,29
2017	WitOMIG	-	2,73	1,34	1,93	2,43
	TolG		0,31	0,46	0,08	1,88
	WitOMIG_k		0,48	0,15	0,54	1,96
	TolG_k		0,19	0,53	0,23	3,37

1.3 Discussion

Dans ce chapitre on s'est intéressé à l'influence de l'environnement (abiotique et biotique) sur la répartition et la condition nutritionnelle des larves de sole au cours du printemps.

1.3.1 Distribution ontogénique et saisonnière des larves de soles en MO

Les plus faibles abondances larvaires ont été rencontrées durant le mois de mars 2017 où seuls les trois premiers stades (vitellin, préflexion et flexion) ont été

collectés. Malgré une augmentation des abondances et l'apparition des stades 4 en avril et 5 en mai, aucune différence d'abondances moyennes n'a été trouvée entre les campagnes de 2017. Les abondances n'étaient pas significativement différentes entre la campagne d'avril 1995 (REISE 1) et celles d'avril (PHYCO) et mai (REIVE 2) 2017. Cependant, les abondances rencontrées en mai 1995 (REISE 2) étaient deux à trois fois supérieures à celles rencontrées au cours de toutes les autres campagnes, notamment celles de 2017.

Cette baisse d'abondance entre 1995 et 2017 est en accord avec les résultats du chapitre précédent (voir chapitre 2.2) où cette différence a été observée sur plusieurs espèces de MO. Le mois de mai (1995 et 2017) est apparu comme étant celui où les plus fortes abondances de sole ont été rencontrées.

En MO, la saison de reproduction s'étend de février à juin lorsque la température de l'eau atteint 7°C (Fonds, 1979). Le temps d'incubation des œufs s'étend sur une période de 5 à 11 jours en fonction de la température (Riley, 1974; Russell, 1976) et l'intensité maximale de reproduction semble avoir lieu courant avril et mai. La période du pic d'abondances larvaires est donc semblable entre les deux années malgré de plus faibles abondances en 2017.

La répartition spatiale entre 1995 et 2017 suit le même schéma avec des abondances maximales rencontrées au niveau des estuaires picards et de la côte d'Opale (Authie, Canche et Somme). En début de saison, les plus fortes abondances se situaient majoritairement aux stations les plus au large et étaient principalement composées de larves de stade 2. Plus tard dans la saison, les abondances maximales ainsi que la proportion d'individus de stades plus avancés étaient plus fortes et plus proche des côtes. La répartition spatiale des larves de soles a déjà été

discutée dans le chapitre 2.1, mettant en avant le schéma de migration ontogénique de la sole des zones de ponte aux nourriceries côtières.

1.3.2 Condition larvaire histologique de la sole

1.3.2.1 Variation ontogénique

Les larves de stade 2 étaient les plus abondantes au cours de toutes les campagnes. Ce stade correspond au stade de première alimentation exogène et a montré la plus forte proportion d'individus en mauvaise condition. Ce résultat illustre le paradigme de la « période critique » issu des travaux de Hjort (1914). Cette hypothèse propose que la variabilité du recrutement soit déterminée par le succès alimentaire des larves peu de temps après la résorption du sac vitellin. De par leurs faibles réserves énergétiques, ces jeunes larves sont très sensibles au jeûne et vont connaître une forte mortalité sur un faible pas de temps.

La proportion d'individus en bonne santé a augmenté pour les stades 3 et surtout 4. Cependant, la relation s'inverse pour les stades 5 où une proportion plus élevée d'individus en mauvaise santé a été mise en évidence. Chez les poissons plats, le terme de métamorphose est appliqué aux individus dont l'œil a commencé sa migration (stade 4) et se poursuit jusqu'au début du stade juvénile (Christensen et Korsgaard, 1999; Geffen et al., 2007). Durant cette phase, les poissons plats vont connaître des changements majeurs en termes de morphologie, de comportement et d'habitat afin de passer d'une larve pélagique à symétrie bilatérale, à un juvénile benthique asymétrique (Ahlstrom et al., 1984). Malgré un maintien de l'activité alimentaire chez les larves de sole (Lagardère et al., 1999), la métamorphose des poissons plats est un processus à forte demande énergétique ayant donc lieu à une période de remaniement comportemental et physiologique pouvant entraîner des

difficultés d'alimentation (Gwak et al., 2003; Keefe et Able, 1993). Ces larves de sole en métamorphose et s'installant dans leurs nourriceries côtières peuvent connaître des effets de densité dépendance du fait d'une forte compétition intraspécifique (Le Pape et Bonhommeau, 2015 et références citées) liée à la disponibilité en nourriture.

La variabilité ontogénique de la condition par approche biochimique avait également été mise en évidence *in-situ* pour une espèce pélagique (*Merluccius hubbsi*) par Diaz et al. (2014). Les auteurs ont trouvé un schéma ontogénique de la condition similaire à notre étude avec une augmentation de la proportion de larves en bonne condition après le stade preflexion (stade 2) jusqu'au stade de postflexion (stade 4), suivi d'une baisse à la fin du stade postflexion et au début de la métamorphose. Ainsi, compte tenu de la proportion d'individus en mauvaise condition, la métamorphose et la transition vers le milieu benthique pourraient également être considérées comme une phase critique du développement larvaire et donc jouer un rôle clé dans la dynamique des populations et du recrutement (Leggett et Deblois, 1994). Dans notre étude, peu d'individus de stade 5 ont été capturés pour confirmer ces hypothèses. Ayant déjà subi le plus gros de la mortalité (i.e période critique du stade 2) et de par leur transition vers le milieu benthique, les larves de stade 5 sont relativement peu nombreuses et sous échantillonnées avec un filet pélagique tel que le filet Bongo (Pearcy, 1962). Ainsi, le reste de l'étude s'est focalisé sur la période critique définie selon Hjort (1914).

1.3.2.2 Influence environnementale sur la condition lors de la période critique

La mise en évidence de facteurs de variation de la condition larvaire et l'estimation de leurs valeurs environnementales optimales et propices au succès de

survie larvaire *in-situ* a peu été étudiée par approche histologique (Catalán et al., 2006; Diaz et al., 2011; Oozeki et al., 1989; Sieg, 1998).

Dans cette étude, il existe une relation entre le grade histologique et la taille des larves de stade 2, i.e. les larves plus grandes sont en meilleure condition. Les larves les plus petites qui ont été analysées ont été capturées durant la campagne REIVE 1 où les valeurs de température les plus faibles ont été enregistrées en 2017 (voir chapitre 2.1). Ces petites larves de stade 2 étaient de grades 1 et 2.

L'effet de la température sur la croissance des larves est un phénomène connu (Pepin, 1991). Cela influence positivement la taille à l'éclosion (Pepin et al., 1997) ainsi que l'efficacité d'utilisation du sac vitellin qui est un des facteurs qui affecte la taille des larves à la fin de l'alimentation endogène (Peck et al., 2012). Ainsi, les cohortes larvaires issues du début du printemps possèdent une taille réduite lors du passage à la nutrition exogène comparées aux cohortes plus tardives. Cela semble ainsi avoir un effet délétère sur la condition des larves post vitellines en accord avec la théorie du taux de mortalité taille-dépendant (Anderson, 1988). En effet, la survie des individus plus petits est plus variable que celles des individus de grande taille du fait d'une plus grande vulnérabilité au jeûne, à la prédation ou à la conjugaison des deux (Garrido et al., 2015; Miller et al., 1988; Pepin, 1991; Pepin et al., 1987; Rosenberg et Haugen, 1982; Shepherd et Cushing, 1980).

Parmi les autres variables utilisées dans l'étude, la fluorescence, la distance à la côte et le bedstress ont montré un effet significatif sur le grade de condition de la sole lors de la période critique. Plusieurs de ces variables environnementales possèdent une certaine colinéarité. On retrouvera donc les températures et fluorescences les plus élevées aux stations les plus proches de la côte en accord

avec les caractéristiques du “fleuve côtier” en MO (cf. chapitre 2.1). Les résultats de l’AFC sur ces variables, couplées aux grades ont permis de mettre en évidence trois groupes de quantiles résumant les classes environnementales associées entre elles. Ensuite, les valeurs individuelles de chaque grade pour chacun des trois groupes ont été calculées et testées. Le grade 1 n’était associé à aucun des groupes. Il est apparu que les grades 2 et 4 étaient associés au groupe A de l’AFC comprenant les stations les plus éloignées de la côte et à plus faibles température et bedstress. Le grade 3 était lui lié à des conditions relativement intermédiaires alors que les grades 5 et 6 étaient eux liés à de fortes valeurs de fluorescence et température ainsi qu’aux stations les plus côtières et intermédiaires.

D’après nos résultats, il semblerait donc que les paramètres environnementaux propres aux stations côtières durant le mois de mai, i.e à température élevée et forte production phytoplanctonique, soient les plus favorables à une bonne condition trophique des larves de sole. A contrario, les zones plus au large, surtout en début de saison, semblent moins favorables à une bonne condition larvaire.

De précédentes études ont montré que la condition des larves de poissons en milieu naturel était meilleure en zone non stratifiée (Catalán et al., 2006) le long des côtes catalanes espagnoles et en zone frontale au niveau des côtes nord patagoniennes (Diaz et al., 2014). Les auteurs mettent en avant le caractère productif de ces zones en termes de chlorophylle a et microzooplancton, induisant une plus grande disponibilité alimentaire et donc une plus grande efficacité d’alimentation des larves de poissons par réduction du coût énergétique lié à la recherche de nourriture. Dans son étude Sieg (1998) a également montré que les larves d’anchois en mauvaise condition étaient majoritairement situées aux stations

les plus au large. Ainsi, le succès de survie larvaire dépendrait en partie de la capacité des individus post vitellin à traverser la zone frontale et ainsi rejoindre le fleuve côtier où la productivité et la stabilité hydrologique sont plus fortes.

1.3.3 Différence de condition de la période critique entre deux périodes contrastées ; 1995 et 2017

Après avoir identifié les gammes de valeurs des paramètres environnementaux favorables à une bonne condition des larves de soles, l'étude s'est penchée sur l'influence des différences de ces paramètres entre deux périodes contrastées, 1995 et 2017. A la lumière de l'OMI, les mois d'avril et mai 2017 étaient caractérisés par rapport à avril et mai 1995 par de plus fortes températures, et de plus faibles valeurs de fluorescence. Ainsi, divisé en sous-ensembles, l'environnement basé sur les variables utilisées est apparu clairement différent entre les deux années. L'analyse a également montré une forte marginalité par rapport à G (environnement moyen) des grades 1-2 regroupés et du grade 6. Ce sont ces grades qui possèdent la plus grande tolérance. Ceux-ci sont associés à des conditions environnementales éloignées de la condition moyenne (G), tout en se retrouvant en faible nombre dans d'autres zones. La WitOMI a révélé que cette tendance était également vraie lorsque les données étaient séparées en fonction des années. En 1995, c'est le grade recomposé 1-2 qui avait la plus forte marginalité et tolérance par rapport à l'environnement moyen de cette année (G_1995) tandis qu'en 2017, aucun individu de grade 1 ou 2 n'a été trouvé en avril et mai alors que le grade 6 est apparu comme le plus marginal et tolérant. Ainsi, En 1995, les larves en mauvaise condition étaient dans des conditions environnementales qui s'éloignaient de l'habitat moyen. Par contre en 2017 ce sont les larves en très bonne condition qui se sont retrouvées dans des habitats particuliers. Ce résultat traduit une variation de la réponse des

larves de soles de stade 2 aux différences de température et fluorescence entre les deux années. Ces conditions particulières semblent correspondre aux stations se situant au niveau des estuaires, où les plus fortes abondances et proportions de larves de grade 6 ont été rencontrées en 2017.

L'année 2017 était donc caractérisée par de plus fortes valeurs de température et de plus faibles valeurs de fluorescence par rapport à 1995. La proportion de grade 6 était supérieure en 2017, cependant, l'environnement moyen rencontré durant cette année aux stations échantillonnées semblait moins favorable à une bonne condition larvaire. En effet, à la vue des résultats de marginalité des grades 6, seulement quelques stations à paramètres environnementaux particuliers par rapport à l'environnement moyen étaient favorables à une bonne condition. La plus grande proportion de grade 6 rencontrée en 2017 pourrait être la conséquence des différences d'échantillonnages entre les années. En 2017, en raison de conditions de mer peu favorables, les échantillonnages se sont principalement concentrés au niveau des trois estuaires. Or, ces zones sont là où les gammes de température et/ou fluorescence sont les plus favorables à l'observation de bonnes conditions larvaires. Ceci pourrait également expliquer pourquoi aucune larve de grades 1 et 2 n'a été capturée en avril et mai 2017. En 1995 la couverture spatiale était plus vaste conduisant à une plus grande variabilité des conditions environnementales rencontrées. En 1995, la marginalité des grades de bonne condition était faible, traduisant un environnement moyen favorable aux larves.

En conclusion, les abondances de larves de soles rencontrées en 2017 sont apparues plus faibles que celles rencontrées en 1995. La localisation des zones à fortes abondances et leur évolution au cours de la saison étaient similaires entre les années avec un grand nombre d'individus au niveau des estuaires. Un gradient

ontogénique du large vers la côte décrit par Grioche (2001) a été confirmé par les missions récentes. Au cours de l'ontogénie, la transition d'une alimentation endogène à exogène et potentiellement celle d'une vie pélagique à benthique se sont révélées être des phases critiques dans le développement des larves de sole. Durant la période critique correspondant au stade 2, la condition larvaire était meilleure en fin de saison en zone côtière où la température et la fluorescence étaient plus élevées en MO. A contrario, les faibles températures rencontrées en début de saison ont eu un effet délétère direct sur la taille et indirect sur la condition. Malgré des températures plus élevées en 2017, les larves de stade 2 rencontrées durant les campagnes d'avril et mai 1995 et 2017 possédaient une taille identique. Cependant, les conditions environnementales rencontrées en 2017 se sont montrées peu favorables à une bonne condition larvaire et où les zones propices à une condition trophique maximale étaient limitées au niveau des estuaires. Les plus fortes valeurs de fluorescence mesurées en 1995 pourraient expliquer la faible marginalité des grades de bonne condition. Ceux-ci ont été rencontrés dans des zones ayant des conditions environnementales proches de l'environnement moyen de cette année témoignant d'un environnement globalement propice au succès de survie larvaire. Etant donné que de faibles différences de taux de mortalité larvaire peuvent entraîner des fluctuations majeures dans le recrutement des poissons (Houde et Hoyt, 1987), les variations environnementales impactant de manière directe (e.g ressources) ou indirecte (e.g température) la condition larvaire, peuvent expliquer les baisses d'abondances des reproducteurs observées depuis la fin des années 1990 en Manche Orientale (Auber et al., 2015, 2017; McLean et al., 2018a, 2018b).

2 Evaluating the histological-based condition of wild collected larval fish: a synthetic approach applied to common sole²

²Published as Di Pane J., Gendrot F., Loots C., Giraldo C., Marchal P. & Koubbi P. (2020) Evaluating the histological-based condition of wild collected larval fish: A synthetic approach applied to common sole (*Solea solea*). *Journal of Marine Systems*. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2020.103309>

Environmental conditions of temperature and fluorescence were found to be more favourable to a good larval condition were encountered during the spring of 1995 compared to 2017. For larvae in poor condition, it has been more difficult to show a trend. Indeed, despite the fact that stage 2 is the most critical period during larval development, relatively few larvae were found in very poor condition or "point of no return" (grades 2 and 1 according to Boulhic (1991)).

The analytical processes used to define larval condition by histological observations, such as those of Boulhic (1991), were defined from an experimental approach. Although providing a detailed description of the effects of linear starvation on the general condition of fish larvae, this condition assessment method has two main limitations. Some criteria observed experimentally, where the risk of predation is nul, and indicating a poor condition may be difficult to observe on individuals collected in the wild where larvae in poor condition are quickly eliminated by predators. This means that the worst physiological conditions observable *in-situ* correspond to those intermediate conditions described experimentally, leading to a misinterpretation of the survival probabilities of fish larvae. In addition, condition grading may be subject to a strong observer effect.

Using sole larvae from the 2017 surveys, different condition assessment methods and appropriate multivariate analyses will be used in the second part of this chapter to define a new grading method. In addition to the Boulhic's grades, gradation of the most commonly used criteria in the bibliography was performed for each individual. The objectives were to (1) separate the criteria related to recent food intake from those reflecting a true physiological condition, and then (2) use these criteria to define an optimal number of grades with a detailed description of the effects of starvation. The final goal is therefore to provide a standardised

questionnaire, reducing the observer effect, as well as new condition grades, more appropriate to estimate the condition of fish larvae caught *in situ*.

2.1 Data analyses

2.1.1 Data acquisition

An extensive review of the literature was performed in order to summarise the different criteria commonly used to detect starvation effects on each of the previously cited organs (i.e gut, liver and pancreas). It was based on the work done by O'Connell (1976) on *Engraulis mordax*, Theilacker (1986) on *Trachurus symmetricus*, Boulhic (1991) on *Solea solea*, Margulies (1993) on three species (*Euthynnus lineatus*, *Auxis spp* and *Scomberomorus sierra*), Yúfera *et al.* (1993) on *Sparus aurata*, McFadzen *et al.* (1997) on *Sardina pilchardus*, Sieg (1998) on *Engraulis anchoita*, Catalán (2003) and Catalán *et al.* (2006) on *Dicentrarchus labrax* and *Sardina pilchardus*, Koubbi *et al.*, (2007) on *Pleuragramma antarctica* and Diaz *et al.* (2013) on *Pagrus pagrus*.

Nineteen criteria were determined for the five organs targeted. Foregut had only one criterion namely goblet cells with three modalities informing on their amount. Midgut and hindgut had both the same four criteria, all with three modalities. They informed on cells heights, brush border microvilli density, amount of vacuoles and tissue organisation. Liver was composed by six criteria of three modalities focusing on cells (i.e hepatocytes size, cytoplasm texture, nuclei appearance and placement) and tissue (i.e integrity and amount of vacuoles). For pancreas, three criteria of three modalities concerned the amount of zymogen, nucleus position and tissue organisation. The fourth criterion, acini stain, had only two modalities. Moreover, the presence of prey in the gut was also considered and had three modalities to describe its amount.

Additionally, each larva was also attributed to one of the six grades defined by Boulhic (1991) from starvation experiments on sole larvae (cf. chapter 1).

2.1.2 Statistical analyses

Statistical and multivariate analyses were applied under the R software (R Core Team, 2018) and the threshold of significance for all analyses was set to 5%. Criteria scores having less than 5 observations have been removed for the numerical analyses.

In order to determine the correspondence between the criteria scores and Boulhic's grades, as well as to identify reliable indicators of starvation state, a Multiple Correspondence Analysis (MCA) was used. It was performed on a complete disjunctive matrix with organs-criteria-modalities in columns and individuals in rows. Boulhic's grades were used as supplementary variables. Euclidean distance was calculated on the coordinates of the criteria on the first two axes of the MCA and a clustering using the aggregation criterion of Ward was performed to identify groups of criteria and their modality. The number of clusters was determined using the "gap statistic" (Tibshirani *et al.*, 2001). Indicator Values (IndVals, Dufrêne and Legendre, 1997) were calculated to determine which group of criteria and associated modalities were significantly linked to each Boulhic's grade (package *labdsv*; Roberts, 2019). The IndVal of a "x" Boulhic's grade, in relation to a "y" group of criteria and associated modalities, is defined within each cluster as follows:

$$\text{IndVal.xy} = \text{Specificity.xy} * \text{Fidelity.xy} * 100$$

where Specificity.xy is the proportion of criteria plus modality of the group "y" with the grade "x", and Fidelity.xy is the proportion of the number of individuals of grade "x" that are in a "y" group of criteria. This method allows identifying the best clustering levels in a dendrogram for each "y". IndVals varied from 0 to 1, in

accordance with the level of association between “y” and “x”. IndVals were tested by a permutation test (999 permutations) to identify significant associations between groups of criteria and grades.

A chi-squared (χ^2) test was then applied to test for the dependency between criteria, recent feeding and Boulhic's grades. From this test, criteria related to the presence of prey in the gut and/or independent of Boulhic's grades were removed. In order to identify groups of individuals with common criteria modalities, a new clustering was performed on coordinates of the individuals on the first two axes of the new MCA (without criteria removed from the first step). Six groups of individuals were defined and proportions of each Boulhic's grade within these groups were calculated in order to assess the relevance of the six grades for wild collected fish larvae. IndVals were also calculated (here “y” were groups and “x” were criteria plus modality).

2.2 Results

The synthetic table of criteria and modalities (i.e scores) for the five organs associated to nutrition (liver, pancreas, foregut, midgut and hindgut) obtained from the literature review is given in Table 15. For all criteria except stain of the acini, three levels of degradation state (modalities) were used. Except for presence of prey, modality 3 corresponded to a healthy state, modality 2 corresponded to an intermediate one and modality 1 corresponded to a degraded one. This resulted in 59 combinations of criteria-modalities.

Table 15 | Summary table built from the literature review describing modalities of each criterion for the different organs. Modalities for presence of prey are also indicated.

Criteria		Modality		
		1 - (Degraded)	2 - (Intermediate)	3 - (Healthy)
Organs				
Foregut	Goblet cells (FO_GC)	Absent	Present	Numerous
	Epithelial cells height (MI_CH)	Reduced by more than 50% or cuboid	Reduced between 25% and 50% or cuboid	Large and convoluted
Midgut	Brush border (MI_BB)	Loss of most microvilli	Moderate microvilli, some degenerations	Many microvilli, intact
	Vacuoles (MI_VA)	Absent	Reduced	Developed
	Tissue organisation (MI_TO)	Large separations	Some detachments	Attached cells
Hindgut	Epithelial cells height (HI_CH)	Reduced by more than 50% or cuboid	Reduced between 25% and 50% or cuboid	Large and convoluted
	Brush border (HI_BB)	Loss of most microvilli	Moderate microvilli, some degenerations	Many microvilli, intact
	Vacuoles (HI_VA)	Absent	Reduced	Developed
	Tissue organisation (HI_TO)	Large separations	Some detachments	Attached cells
Liver	Hepatocytes size (LI_HS)	Small or atrophied	Medium and distinct	Large and distinct
	Cytoplasm (LI_CY)	Hyaline, lack of texture	Granular and homogeneous	Many textures
	Hepatocytes Nucleus	Size or placement (LI_NS)	Centrals, extended or indistinct nucleoli	Laterals, reduced and distinct nucleoli
		Stain (LI_ST)	Dark and grainy stains	Distinct nucleoli, slightly granular
	Tissue organisation (LI_TO)	Disjunct cells, loss of lamellar structure	Some detachments	Attached cells
	Vacuoles (LI_VA)	Absent	Rare and scattered	Numerous and wide
Pancreas	Zymogen (PA_ZY)	Very little or no	Moderate (granular)	Abundant (homogeneous), filled sinuses
	Acini	Stain (PA_AS)	Dark	Pale
		Nucleus (PA_NU)	Indistinct or pycnotic nuclei	Distinct nuclei in basal position
	Tissue organisation (PA_TO)	Large separations, acini indistinct and unsymmetrical	Some detachments, acini weakly distinct, of irregular shape, not symmetrical	Contiguous, well-defined acini, circular in shape, and symmetrical
Prey	Prey presence (PR)	Absent	Present	Numerous (>2)

2.2.1 Relation between criteria and Boulhic's grades

Results of the MCA are presented in Figure 34. Two criteria modalities (absence of goblet cells; FO_GC.1 and small and pycnotic hepatocyte nucleus; LI_NS.1) had less than 5 observations and were removed from the analyses. Both axes explained 33% of the variation. There was a clear trend in the distribution of modalities along the first axis with most of modalities 1 on the right, modalities 2 in the middle and modalities 3 on the left. On the second axis, the majority of modalities 1 was on the lower part and separated from the others which were on the upper part. Boulhic's grades were also distributed along the first axis with grade 1 on the right side, grades 2, 3 and 4 in the middle and grades 5-6 on the left. Again, grade 1 was separated from the others along the second axis.



Figure 34 | MCA of criteria and their modality (1-3). The factorial plan of the first two axes is represented. Boulhic's grades were used as supplementary variables and are plotted at their barycentric position. Colors depict groups (A-D) obtained from the clustering analysis and association of the grades with these groups. Abbreviations are given in Table 15.

Four groups of criteria were obtained from the clustering analysis (Figure 35). Group A gathered a mix of different modalities from 1 to 3 for different criteria including presence of prey, vacuoles in hindgut and midgut and goblet cells in foregut. This group was clearly close to the origin of the MCA (Figure 34), traducing independence, and was not significantly linked to any particular Boulhic's grade. Group B gathered the majority of modalities 1 for most of the criteria and was close on the MCA and significantly (IndVal = 0.39) linked to Boulhic's grade 1. Group C included most of modalities 2 and some modalities 1 (vacuoles and nucleus stain in liver; LI_VA and LI_ST, and zymogen and acini stain in pancreas; PA_ZY and PA_AS) and was associated with Boulhic's grades 2, 3 and 4 (Indvals = 0.40, 0.45 and 0.37 respectively). Finally, group D included only modalities 3 for most criteria (except those that were in group A) and was significantly associated with Boulhic's grades 5-6 (Indvals = 0.47 and 0.68).

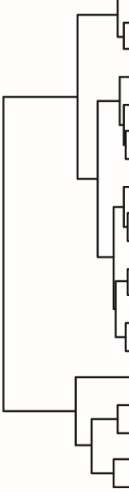
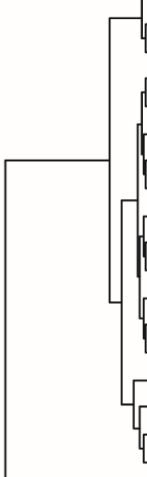
	Criteria	Mod.	Group	Grades	IndVals
	LI_HS	1	B	1	0.39
	HI_TO	1			
	LI_CY	1		2	0.23
	PA_NU	1			
	LI_TO	1		3	0.11
	MI_TO	1		4	0.02
	PA_TO	1			
	MI_BB	1		5	0.00
	MI_CH	1			
	HI_BB	1	6	0.00	
	HI_CH	1			
	LI_HS	2	C	1	0.22
	HI_VA	2			
	LI_VA	2			
	PA_TO	2			
	HI_TO	2		2	0.40
	HI_CH	2			
	MI_TO	2			
	PA_NU	2		3	0.45
	HI_BB	2			
	LI_CY	2			
	LI_TO	2		4	0.37
	MI_BB	2			
	LI_ST	2			
	MI_CH	2			
	LI_ST	1		5	0.24
	LI_VA	1			
PA_ZY	1				
	LI_NS	2	6	0.04	
	PA_AS	1			
	MI_TO	3	D	1	0.00
	LI_HS	3			
	LI_VA	3			
	HI_CH	3			
	MI_BB	3		2	0.03
	HI_TO	3			
	LI_NS	3			
	LI_ST	3		3	0.15
	MI_CH	3			
	HI_BB	3			
	LI_TO	3		4	0.28
	PA_TO	3			
	LI_CY	3			
	PA_NU	3		5	0.47
	PR	3			
	HI_VA	3			
PA_AS	3	6	0.68		
	PA_ZY	3			
	MI_VA	2	A	1	0.18
	PA_ZY	2		2	0.28
	MI_VA	3			
	FO_GC	3		3	0.29
	PR	2			
	FO_GC	2		4	0.32
	PR	1			
	HI_VA	1		5	0.29
	MI_VA	1	6	0.28	

Figure 35 | Groups of criteria with their modality obtained from the clustering analysis. IndVals of the Boulhic's grades within each group are given and significant ones ($P < 0.05$; 999 permutations) are indicated in grey cells.

Chi² test (Table 16) revealed that two criteria, namely goblet cells in the foregut (FO_GC) and vacuoles in the midgut (MI_VA) were independent to Boulhic's grades. On the contrary, there was dependence between the presence of prey (PR) and five criteria including vacuoles in the midgut and hindgut (MI_VA and HI_VA), hepatocytes size (LI_HS), amount of zymogen (PA_ZY) and stain of acinis (PA_AS). These six criteria were removed in the next analysis.

Table 16 | P-values of Chi² tests of independence of criteria regarding Boulhic's grades and prey presence. Grey cells indicate independence with grades and dependence with presence of prey.

Criteria	Chi ² (p-value)	
	Grades	Prey presence
FO_GC	0.19	0.65
MI_CH	< 0.01	0.52
MI_BB	< 0.01	0.28
MI_VA	0.05	< 0.01
MI_TO	< 0.01	0.44
HI_CH	< 0.01	0.87
HI_BB	< 0.01	0.54
HI_VA	< 0.01	< 0.05
HI_TO	< 0.01	0.65
LI_HS	< 0.01	< 0.01
LI_CY	< 0.01	0.47
LI_NS	< 0.01	0.10
LI_ST	< 0.01	0.32
LI_TO	< 0.01	0.24
LI_VA	< 0.01	0.21
PA_ZY	< 0.01	< 0.05
PA_AS	< 0.01	< 0.01
PA_NU	< 0.01	0.89
PA_TO	< 0.01	0.30

2.2.2 Individuals classification

Proportion of the six Boulhic's grades within each of the six groups (I - VI) obtained from the clustering of individuals based on their coordinates on the first two axes (28% and 13% of explained variation respectively) of the new MCA are

represented in Figure 36. Even if different grades were observed in the different groups, each of them was more represented in one or two groups. Group II gathered mainly grades 1 and 2 whereas group I was dominated by grade 3. Groups III and V were mostly dominated by grade 4, group IV by grade 5 and group VI by grade 6.

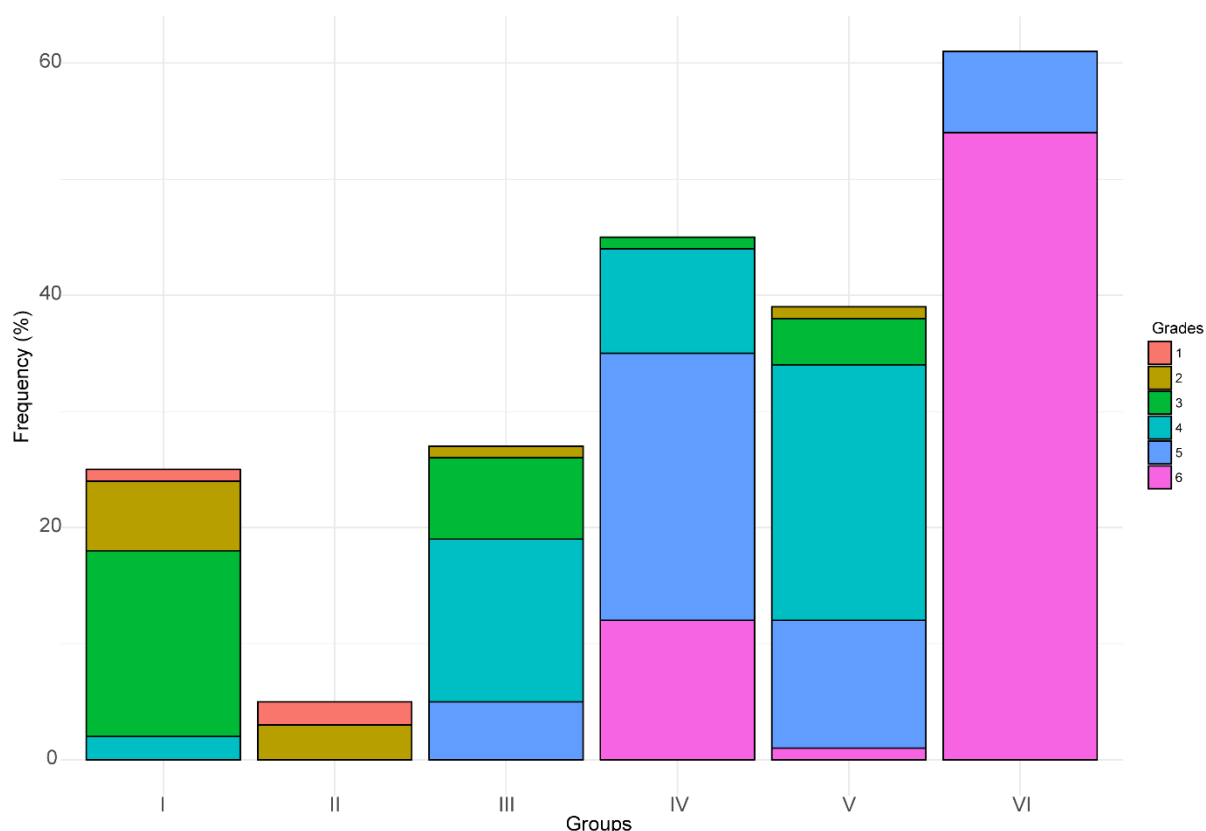


Figure 36 | Proportions of the Boulhic's grades within the six groups of individuals obtained from the clustering.

Of the six groups obtained, only four (I, II, III and VI) were significantly associated with at least one criterion of the reduced set (Figure 37). Almost all criteria and modalities (except liver tissue organisation of modality 2; LI_TO.2 and hepatocytes vacuoles of modalities 1 and 2; LI_VA.1 and LI_VA.2) were significantly associated with a group. Group I was associated to only one criterion of modality 2 (size and placement of hepatocytes nucleus, LI_NS.2; IndVal = 0.22). Group II was

characterised by all modalities 1 of eleven criteria (IndVals ranged from 0.3 to 0.8). Group III was significantly linked to modalities 2 of ten criteria (IndVals ranged from 0.25 to 0.33) and group VI to modalities 3 of 13 criteria (IndVals ranged from 0.35 to 0.48).

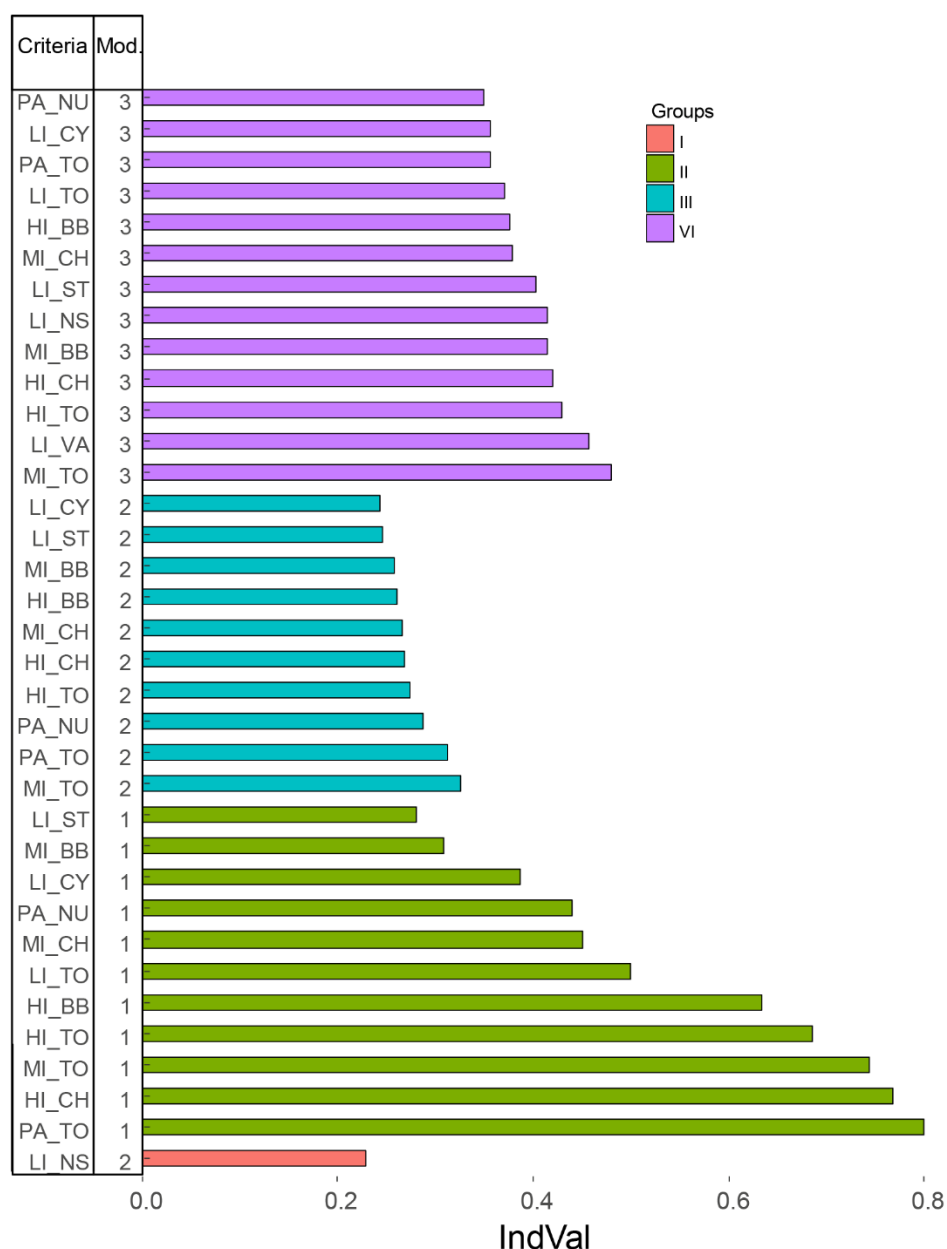


Figure 37 | Association (only significant IndVals are represented, $P < 0.05$, 999 permutations) between criteria and their modalities (Mod.) and the six groups of individuals obtained from the clustering. Groups IV and V were not associated with any particular criterion.

2.3 Discussion

Two scoring methods were used to evaluate the nutritional condition of *in situ* caught sole larvae. The first one is at the organ scale based on filling a detailed table of criteria that are classically used in histological observations and the second one at the larval scale based on the six grades which were determined from an experimental study (Boulhic, 1991). Results obtained from the comparison of the two methods allow to identify criteria that are the most pertinent to evaluate the larval condition and to evaluate the relevance of the six grades proposed by Boulhic when dealing with wild collected specimens. These aspects are discussed below to evaluate their relevance for larvae caught *in situ* and a new gradation scale of fish larvae condition is proposed thereafter.

2.3.1 Recent feeding versus true larval condition criteria

From our results, vacuoles in the enterocytes, size of the hepatocytes, the amount of zymogen and the colour of acini were identified as criteria reflecting recent larval feeding. In addition, the presence of prey in the digestive tract does not reflect the general state of the larva since even individuals in very poor condition were found with prey in their guts. Finally, regarding the amount of goblet cells in the foregut, all individuals presented goblet cells in our study, and their amount was not related either to presence of preys in the gut nor to the grade of starvation. It has been considered as a sign of recent feeding during starvation experiments (Boulhic, 1991) but (Gisbert et al., 2004a) showed that the number of goblet cells increases during ontogeny. It means that this criterion is size-dependent and should not be taken into account when attributing a level of starvation. Overall, use of these very short-term response criteria can be a source of misinterpretation when attributing a grade of

starvation, since it should consider long term nutritional conditions experienced by the larvae.

In opposition to the previous observations, criteria related to the integrity and thickness of epithelial cells and the brush border for mid- and hindgut appeared relevant to assess the larval condition. Indeed, degradation patterns of enterocytes are well documented and were defined as some of the most accurate criteria (e.g Green and McCornick, 1999; Rodríguez et al., 2005; Theilacker, 1995; Theilacker and Watanabe, 1989). In the literature, vacuoles in the digestive tract were also considered as an indicator of good condition (Margulies, 1993 and references therein). In our results, the presence of vacuoles varied according to the gut region. In the midgut it was not related to Boulhic's grades but to the presence of prey, whereas the number of vacuoles from the hindgut was related to the level of starvation and the presence of prey. Lipids are firstly absorbed during the digestive process mainly in the midgut in the form of lipid droplets whereas proteins are secondly absorbed in the hindgut in the form of acidophilic inclusions (Boulhic and Gabaudan, 1992; Deplano et al., 1991; Diaz et al., 1997; Govoni et al., 1986; Kjørsvik et al., 1991; Olsen et al., 2000; Sarasquete et al., 1995; Yúfera et al., 1993). The type and size of lipid inclusions in the midgut, also observed in the hindgut and rectal regions (García Hernández et al., 2001), are dietary-dependent as they increase with the fat content of food and the degree of unsaturation of ingested lipids (i.e prey quality) (Gisbert et al., 2008). On the contrary vacuoles presence can also indicate a poor condition since they can be used as a storage form of re-esterified fatty acids that cannot be metabolised by larvae (Kjørsvik et al., 1991) or they can reflect autophagy phenomenon (Segner et al., 1987). Moreover, hindgut enterocytes of starved larvae can display more abundant proteins inclusions than fed individuals

(Catalán, 2003; Kjørsvik *et al.*, 1991). Hence, the number of vacuoles in the gut as a pertinent criterion to diagnose larval condition remains uncertain.

Almost all criteria related to liver (except hepatocytes size which was more related to recent feeding) were relevant to evaluate larval condition. Regarding vacuoles, their presence was used to discriminate healthy larvae with reserves (grade 6) from healthy larvae with no reserves (grade 5). Absence (modality 1) and scarcity (modality 2) appeared not relevant since their IndVal were not significant to discriminate groups of individuals. The liver is considered as being sensitive to starvation because of its role of energy reservoir. During digestion and assimilation, larvae store glycogen and neutral lipids in the form of vacuoles in the hepatocytes. This leads to an increase of hepatocytes size (Boulhic, 1991) and to a change in the position of the nucleus which becomes more peripheral. During starvation, reserves in the liver are the first ones to be mobilised (O'Connell, 1981; Segner *et al.*, 1994) and smaller vacuoles lead to a large and central nucleus (Deplano *et al.*, 1991). Proteins are used during more severe starvation once these reserves have been exhausted (Love, 1970). Vacuolation of modality 3 (numerous and wide) was found significant to discriminate individuals with reserves from those without reserves. Moreover, size and placement of nucleus (linked to vacuoles width) of modality 2 were the only significant criteria related to individuals of group I. These two criteria could be an indication of transition between larvae with no reserves and larvae starting to get starved. Indeed, a decreasing amount of vacuoles does not necessarily reflect a poor condition, but could be seen as a decrease in the potential of starvation without physiological consequences (i.e tissues degeneration).

Regarding pancreas, whereas tissular integrity was a good criterion to evaluate larval condition, zymogen amount and stain of acini were related both to

starvation and to recent feeding (i.e poor amount of zymogen was found in larvae of poor condition or with numerous preys in the gut). Pancreas presents pyramidal acinar cells glands and acidophilic zymogen as pancreatic enzyme precursor. It has been recognised that starvation leads to degeneration of the exocrine pancreas (Crespo et al., 2001; Diaz et al., 2013) and variation in the amount of zymogen (Boulhic, 1991; Patt and Patt, 1969). Several studies stated that under food deprivation, the enzymatic activity and amount of zymogen decrease (O'Connel, 1976; Boulhic, 1991) whereas others enunciated that accumulation of zymogen was observed in starved larvae (e.g Gisbert et al., 2004b; Margulies, 1993) due to a lack of feeding stimuli for its release (Pedersen et al., 1987; Yúfera et al., 1993). Stain of the acini was also a criterion related to recent feeding, probably due to the correlation with zymogen amount, i.e a large amount of zymogen leads to a pale shade of acini. Hence, the amount of zymogen (and associated stain of the acini) should be considered more as an indicator of recent feeding than of the larval condition.

2.3.2 Quotation system for wild collected specimens

The grading system developed by Boulhic (1991) from starvation experiments and used by Grioche (1998), Harlay (2001) and Koubbi et al. (2007) is based on the different response time of the organs to starvation. In the present study, we used a more complete questionnaire to reduce the observer effect, as suggested by Koubbi et al. (2007), and compared it to these six grades. Once the criteria linked to recent feeding were removed, the same modalities for all criteria were grouped together. There was also a clear correspondence between Boulhic's grades and modalities, i.e modalities 3 were associated with grades 5 and 6, modalities 2 with grades 2, 3 and 4 and modalities 1 with grade 1. However, the groups of individuals obtained from the organs-based scoring (criteria and modalities) were not

homogeneous in terms of Boulhic's grades, i.e a mix of different grades were found in each group. This suggests that the resolution of the grading system obtained from experimental observations might be too fine and not adapted for larvae collected *in situ*. In the wild, fish larvae in poor condition might be rapidly caught by predators (Hare and Cowen, 1997; Leggett and Deblois, 1994; Purcell et al., 1987; Rosenthal and Alderdice, 1976) because of lower buoyancy and mobility (Blaxter and Ehrlich, 1974; Sclafani et al., 2000). Moreover, larvae that do not feed sufficiently grow less rapidly (Garrido et al., 2015) which can increase their mortality as stated in the Growth-mortality hypothesis by Anderson (1988) or by Miller *et al.* (1988) stating that "bigger is better". Faster growing individuals are less subject to predation since they have better swimming capacities and experience a shorter duration of the critical larval period (e.g Houde, 1997; Pepin, 2016; Takasuka et al., 2007). These phenomena result in some starvation grades, in particular those reflecting very poor condition, to be less observed in the wild than the others.

From these results, we then suggest that a quotation system based on three grades may be more appropriate to evaluate the larval condition of *in situ* specimens. The questionnaire that was used for this study can then be simplified in order to keep only criteria which are the most relevant to estimate larval condition (as discussed above) like cells height or vacuoles in the liver. Criteria such as stain of cytoplasm or nucleus, even if significantly linked to condition in our results, are more questionable since they can be more subject to observers' appreciation. They can be observed secondarily as support for other criteria. We then proposed the following quotation system:

Grade 3: Fish larvae are in good nutritional condition, the organs are well-structured. The main criterion is the presence of large and numerous vacuoles in the liver. Epithelial cells of hindgut and midgut are large and convoluted with good integrity and many microvilli. Cytoplasm of hepatocytes contains many textures and nuclei are lateral and reduced with distinct nucleoli. Liver's vacuoles are numerous and wide and cells are attached. Tissue organisation of the pancreas forms a cohesive whole, with well-defined acini (symmetrical circular shape). Acini's' nuclei are distinct in basal position.

Grade 2: Fish larvae depict signs of starvation, organs integrity has started to alter with no sign of reserves. Wide liver vacuoles are absent, leading to a central position and a larger size of hepatocytes nuclei. Epithelial cells of hindgut and midgut are reduced with moderate microvilli and some detachments are observed. Hepatocytes' nuclei are dark and grainy while cytoplasm appears homogeneously granular. Pancreas can show some detachments with acini weakly distinct as well as their nucleus.

Grade 1: Fish larvae are in a degraded state of severe starvation, all organs are deeply altered. Integrity of the epithelial cells of guts, brush border and mostly pancreas is strongly affected. Epithelial cells, especially for the hindgut, are very reduced or even cuboids. Acini's nuclei are indistinct and potentially pycnotic. Liver's cells are disjunctive leading to the loss of the lamellar structure, with darkly stained nuclei and hyaline cytoplasm.

This methodology aimed to determine the degree of larval conditions caught *in situ*. As an example, we investigated the proportion of each grade by development stages of the sole larvae used for this study (Figure 38). Overall, there was an

increase of the proportion of healthy individuals from stage 2 to stage 4. Stage 2 is the only stage with a higher proportion of intermediate (grade 2) than healthy individuals. On the contrary, stage 4 larvae were mainly attributed to the grade 3 and some to the grade 2. Stage 5 larvae had a relatively high proportion of emaciated larvae (grade 1) similar to what was observed for stage 2. These results are in accordance with the “critical period” hypothesis from Hjort (1914), i.e failure of first-feeding larvae to find food (stage 2 larvae), and the cost of energy-demanding process which is metamorphosis for flatfishes (stage 5 larvae) (Geffen et al., 2007; Le Pape and Bonhommeau, 2015).

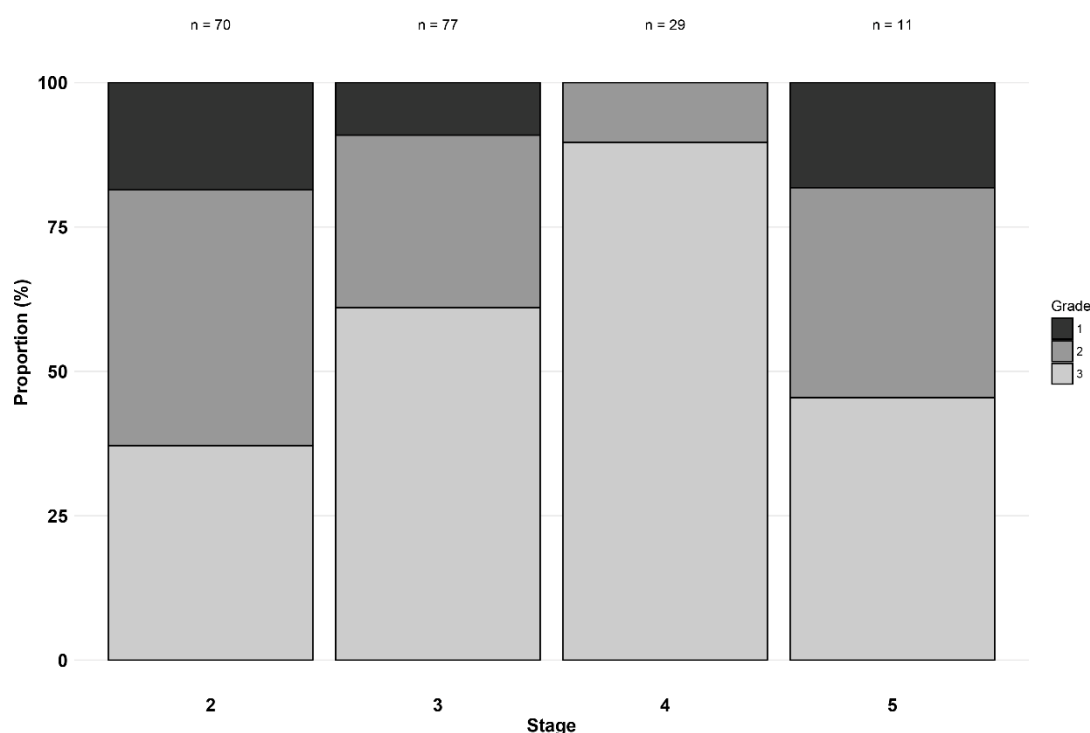
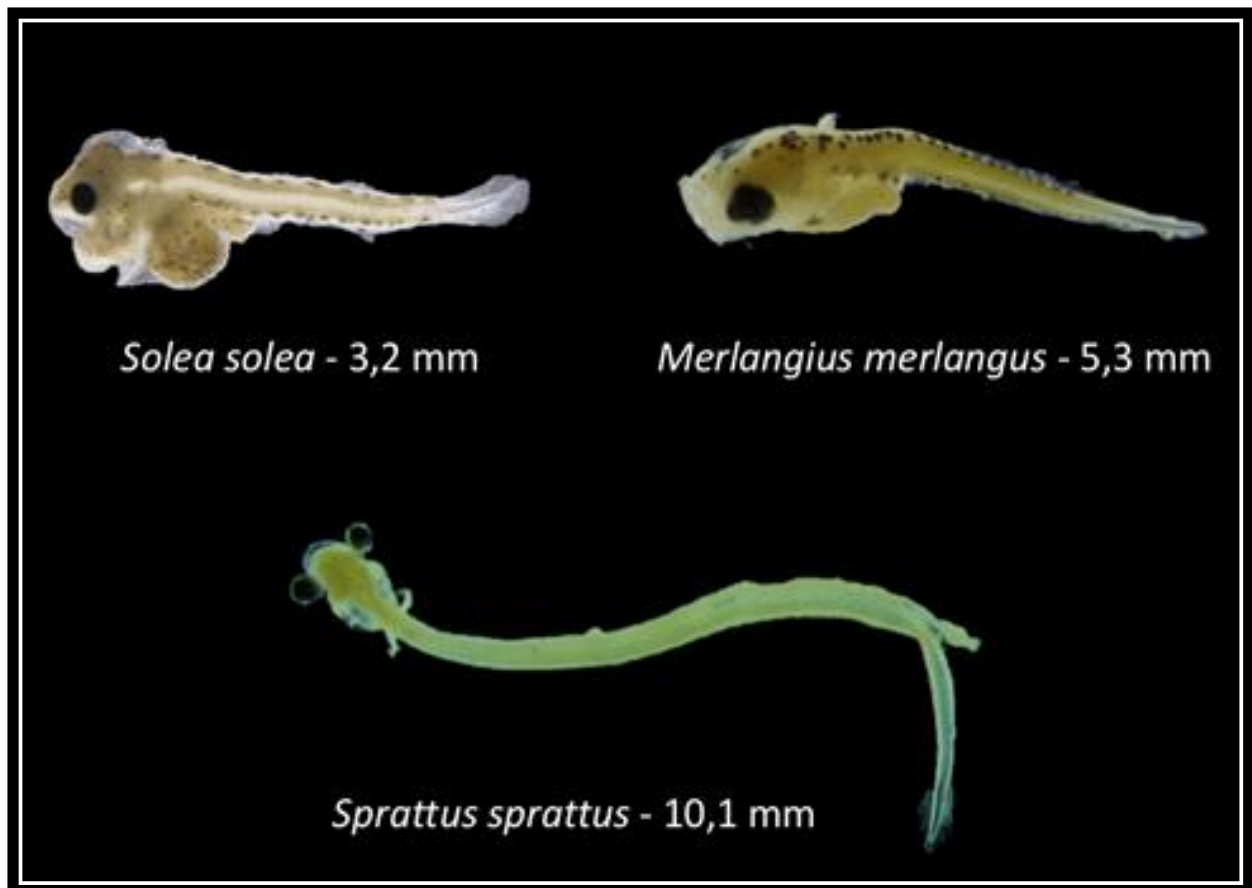


Figure 38 | Proportion of the three grades of condition depending on development stages of sole larvae.

This quotation system can be used to evaluate the larval condition of fish not only in terms of ontogenic variations, but also from a spatial and inter-annual point of view. In a spatial context, the condition index could be mapped and related to

environmental factors in order to identify suitable areas for larvae to develop and survive. From an inter-annual point of view, the condition of *in situ* larvae might be used to study variations between years in the potential of survival of fish larvae which is of particular interest if one wants to evaluate annual recruitment and year-class strength in fish populations from early-life stages.

Chapitre 4: Variations interspécifiques de la condition larvaire au cours de la période critique



L'hypothèse de la période critique issue des travaux de Hjort (1914) veut que la plus forte mortalité larvaire ait lieu peu de temps après la résorption du sac vitellin. En accord avec ce paradigme, les larves de stade 2 de sole (chapitre 3.1) avaient la plus faible proportion d'individus en bonne santé et la plus forte proportion d'individus en condition de jeûne sévère. Concernant les bonnes conditions, celles-ci semblent se concentrer aux zones les plus côtières pour la sole, notamment au niveau des estuaires. Pour cette espèce, la surface de ces zones favorables à une bonne condition larvaire semble avoir diminué depuis les années 1990. Ce résultat a été obtenu en utilisant la méthode de gradation histologique définie expérimentalement par Boulhic (1991). A partir de cette étude, nous avons proposé de redéfinir cette échelle afin qu'elle puisse s'appliquer aux individus capturés en milieu naturel où d'autres facteurs de mortalité entrent en synergie avec le jeûne (chapitre 3.2).

Les périodes critiques (stades 2) des trois espèces printanières ciblées dans la thèse seront étudiées, i.e le sprat, le merlan et la sole. Il sera recherché s'il existe entre ces espèces des différences spatiales ou temporelles de préférences environnementales lors de la période critique. Le choix de ces trois espèces se justifie par les résultats du chapitre 2, les classant parmi les espèces les plus abondantes en MO au printemps, et en raison de leurs différents traits de vie (espèces benthique, démersale et pélagique; Tableau 17). Des différences en termes de phénologie ont été observées avec un pic d'abondance en mai pour la sole, tandis que le merlan était plus abondant en avril. Le sprat était également plus abondant en mai, avec cependant une dominance sur toute la saison.

Tableau 17 | Descriptions des espèces étudiées. Les durées larvaires sont issues de Russel (1976) et Fonds (1979); et les proies principales de Nunn et al. (2011).

Espèce	Famille	Morpho.	Position colonne d'eau (adulte)	Durée vie larvaire	Proies principales
Merlan	Gadidae	Rond	Démersal	?	Calanoïdes et cyclopidés
Sole	Soleidae	Plat	Benthique	~4 semaines	Larves de lamellibranc hes
Sprat	Clupeidae	Long	Pélagique	~20 jours	<i>Acartia spp</i>

A l'aide des nouveaux grades histologiques définis pour les larves capturées *in situ* (condition physique), et de l'indice de croissance (condition physiologique), les objectifs de ce chapitre sont de comparer les conséquences de la période critique marquant le passage de la nutrition vitelline à la nutrition exogène pour ces trois espèces en : (1) étudiant la variabilité de la condition et du taux de croissance, (2) identifiant et comparant les zones favorables pour la condition et la croissance et (3) évaluant les variations au cours du printemps de leur état de santé et de croissance.

1 Traitement des données

1.1 Origine des données

Le nombre de larves de stade 2 de sole, de merlan et de sprat analysées par campagne et par zone (cf. chapitre 2.2 ; Figure 39) pour chacun des deux indices est donné dans le Tableau 18. Pour l'approche histologique, les données issues des campagnes printanières REIVE I, REIVE II, PHYCO et IGA ont été utilisées (chapitre 1).

Tableau 18 | Nombre d'individus de chaque espèce analysée par indice en fonction des zones et des campagnes. Gi : taux de croissance instantané; IR: Indice résiduel. Pour IGA seuls la sole et le sprat ont été analysés par histologie.

Espèce	Indice	Campagne				Zone		
		REIVE 1	PHYCO	REIVE 2	IGA	Caux	Estuaires	Nord
Merlan	Histologie	0	47	27	-	10	23	41
	Gi IR	0	28	6	-	9	16	9
Sole	Histologie	24	17	29	31	6	20	20
	Gi IR	36	55	22	-	8	48	7
Sprat	Histologie	0	21	9	15	20	10	0
	Gi IR	7	16	12	-	3	18	7

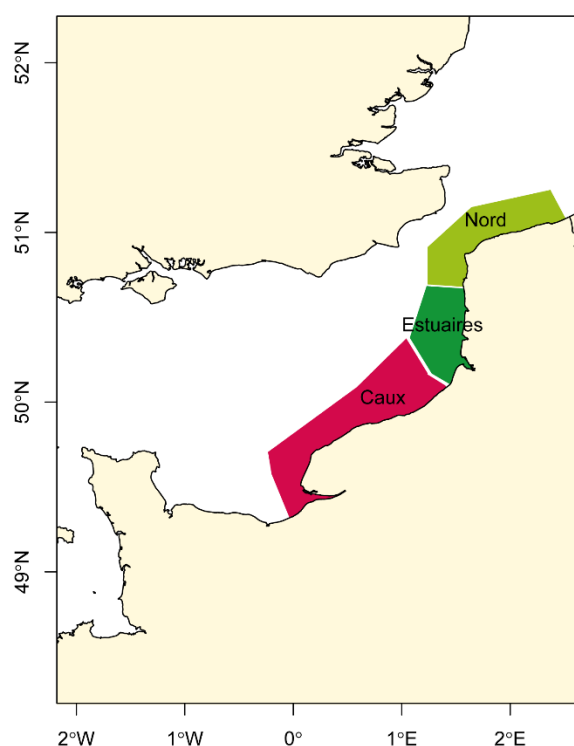


Figure 39 | Localisation des trois zones définies pour cette étude.

1.2 Indice histologique

La proportion des trois différents grades histologiques de condition (cf. chapitre 3.2) a été calculée pour chaque espèce. Une ACM a été réalisée pour chaque espèce à partir d'un tableau disjonctif des 13 critères histologiques retenus

pour la définition des trois nouveaux grades (cf. chapitre 3.2). Cette analyse permet d'observer la répartition de ces critères et de leurs modalités suivant les individus analysés et la manière dont ils se positionnent par rapport aux trois grades (considérés ici comme variables supplémentaires). Pour chaque espèce, les valeurs indicatrices (IndVal; Dufrêne et Legendre, 1997) ont été calculées pour déterminer quels critères et leurs modalités associées (1,2 ou 3) étaient significativement reliés aux grades de condition (voir chapitre 3.2 pour la méthodologie de l'analyse). Les IndVals vont de 0 à 1 selon le niveau d'affinité d'une modalité d'un critère vis à vis d'un grade. La proportion des différents grades histologiques a été calculée pour chaque espèce en fonction de la campagne (REIVE 1, PHYCO, REIVE 2) et de la zone (Pays de Caux, estuaires et Nord).

1.3 Taux de croissance instantané

Un test de Kruskal-Wallis a été appliqué sur les valeurs mesurées du taux de croissance instantané (G_i) en fonction de l'espèce. Pour étudier la tendance de la croissance en fonction de la taille, un modèle linéaire du G_i en fonction de la quantité d'ADN comme proxy continu de la taille (ou biomasse) a été réalisé. Les pentes ont ensuite été comparées entre les espèces par méthode de Tukey. Un indice de croissance résiduel (IR) a été calculé selon Chicharo et Chicharo (2008) afin de supprimer l'effet de la taille sur le taux de croissance, permettant de comparer la condition des larves qui ont des tailles différentes. Pour chaque espèce, une régression du $\log(\text{ARN}+1)/\log(\text{ADN})$ a été calculée et les résidus récupérés pour chaque individus. Pour chaque espèce, une RDA (analyse de redondance) a été réalisée, selon la méthode proposée par Borcard et al. (2011), sur des données centrées-réduites des deux indices (G_i et IR) en fonction des variables explicatives disponibles: environnementales, géographiques, campagne et zone. Un test de

permutation (999 permutations) a été réalisé pour calculer sa significativité. L'opération a été réitérée pour tester la significativité des variables. La colinéarité des variables a été explorée par une analyse VIF (cf. chapitre 2.2 pour plus de détails). Dans le cas de variables non significatives et/ou de fortes colinéarités observées, le modèle a été réduit en une forme plus parcimonieuse. La sélection des variables a été faite en créant un modèle nul (i.e origine seulement) puis en réalisant une "forward selection" en partant du modèle nul et une "backward selection" en partant du modèle complet, simultanément. Cette méthode de sélection effectue un test de permutation de Monte Carlo (999 permutations) sur chaque variable et s'arrête une fois que le modèle ne s'améliore plus avec l'ajout ou la suppression de variables, sur le critère du R^2_{Adj} (Blanchet et al., 2008). Le modèle simplifié a été ensuite testé par un test de permutation (999 permutations), de même que les variables restantes. Les RDA simplifiées ont ensuite été représentées avec les objets (individus) qui sont des sommes pondérées des variables réponses (G_i et IR), cette méthode graphique recommandée par Borcard et al. (2011) étant plus robuste au bruit des variables environnementales. Dans cette représentation, la distance entre les variables réponses ou explicatives est dénuée de signification, de même que la longueur des flèches, le degré de corrélation se mesurant selon l'angle des flèches.

Les valeurs de G_i et IR mesurées pour chaque espèce ont ensuite été comparées par paires en fonction des zones et des campagnes par un test non paramétrique de Dunn avec p-value ajustée selon la méthode de Bonferroni (Dunn, 1964).

2 Résultats

2.1 Variations interspécifiques

2.1.1 Condition physique

Les proportions des grades histologiques des stades 2 pour chacune des trois espèces sont présentées en Figure 40.

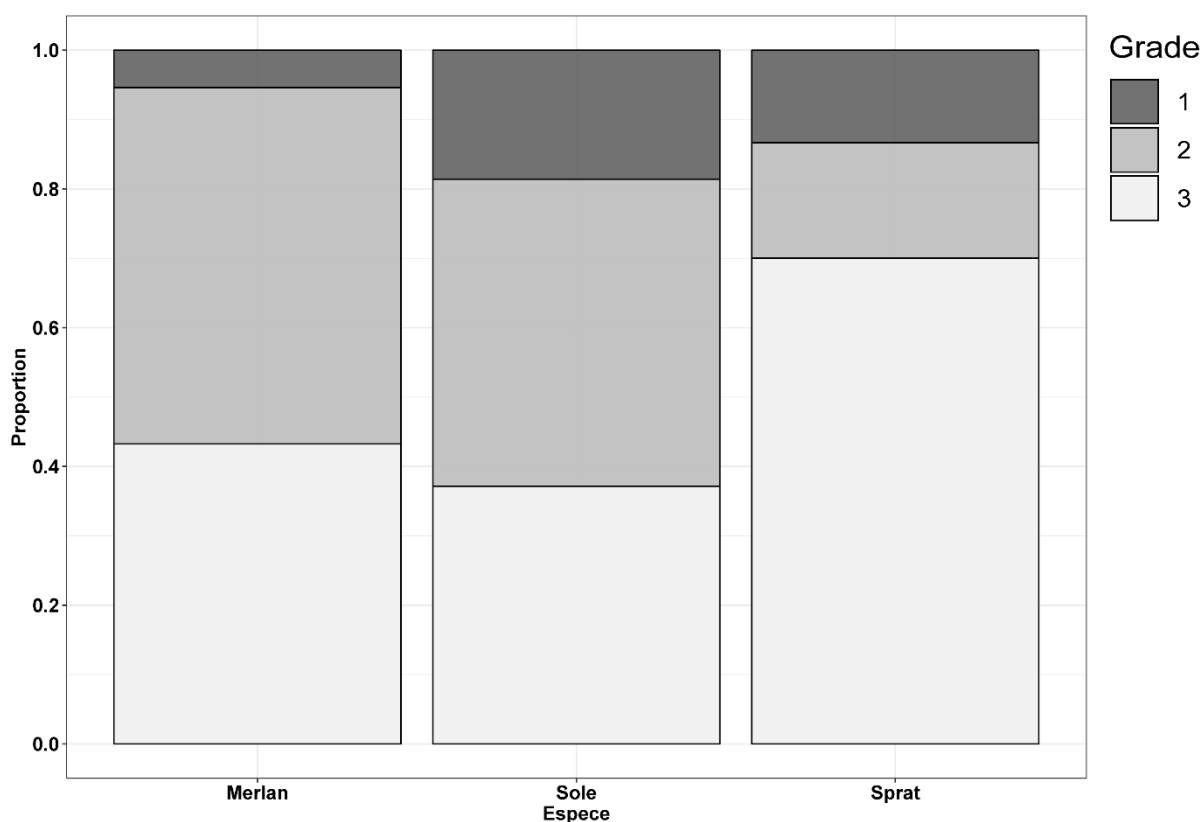


Figure 40 | Proportions des trois grades histologiques pour chacune des trois espèces. Grade 1 : mauvaise condition ; grade 2 : intermédiaire ; grade 3 : bonne condition.

La plus forte proportion d'individus en grade 3 (bonne condition) est observée chez le sprat (70%) suivi par le merlan (43,2%) et la sole (37,1%). Le grade 2 de condition intermédiaire est le plus représenté chez le merlan avec 51,4% des individus contre 43,3% pour la sole et 16,7% pour le sprat. La plus forte proportion

d'individus en mauvaise condition se retrouve chez la sole avec 19,6% des effectifs, suivi par le sprat (13,3%) et le merlan (5,4%).

Les ACM réalisées pour chaque espèce sur les critères histologiques sont présentées en Figure 41.

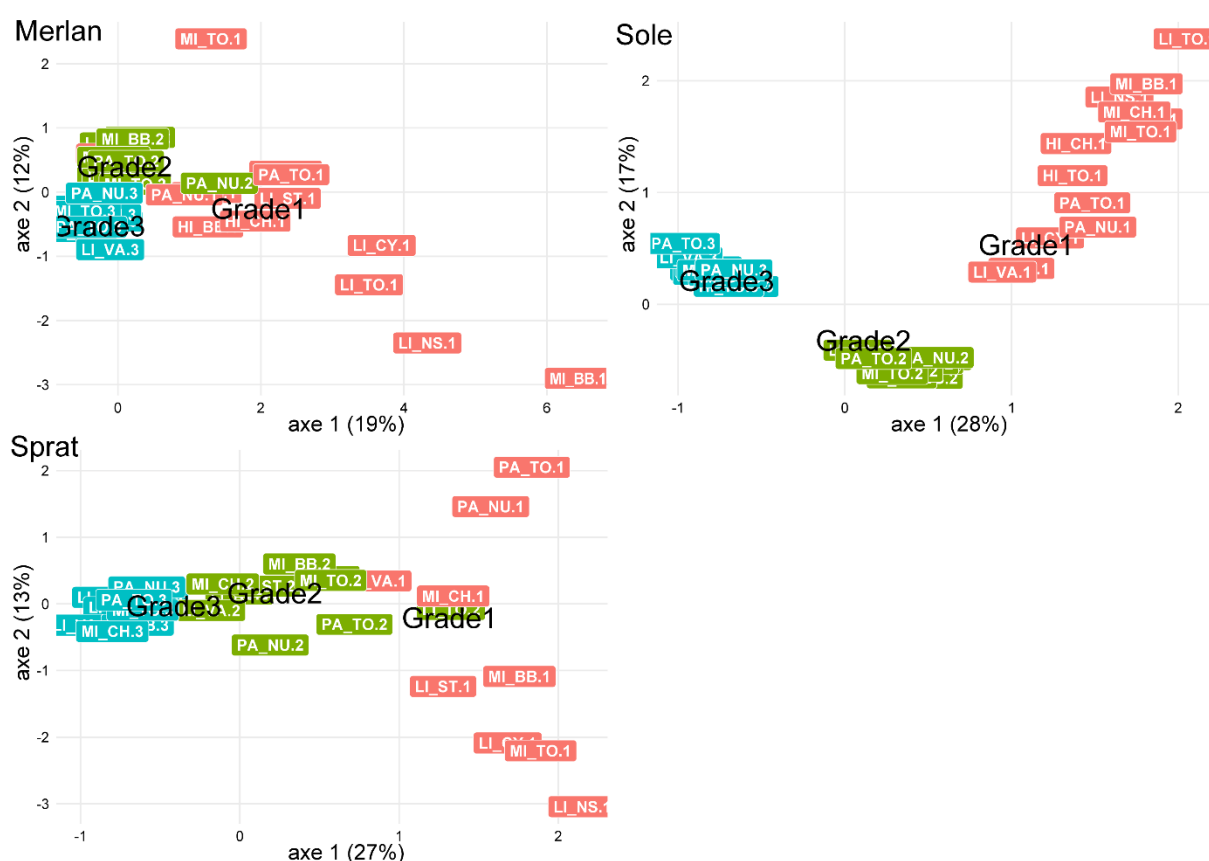


Figure 41 | ACM des critères histologiques et de leurs modalités (rouge = 1; vert = 2; bleu = 3). Les grades sont représentés en tant que variables supplémentaires. Les acronymes sont ceux utilisés dans le chapitre 3.2.

Les deux premiers axes expliquent respectivement 31% de la variance pour le merlan, 45% pour la sole, et 40% pour le sprat.

Pour la sole, les modalités sont réparties le long de l'axe 1 avec les modalités 1 du côté positif et rassemblées vers le grade 1, les modalités 2 au centre avec le

grade 2 et les modalités 3 dans la partie négative de même que le grade 3. On observe donc un regroupement des critères en fonction de leurs modalités.

Pour le merlan, les modalités 1 sont réparties le long de l'axe 1 de manière diffuse tandis que les modalités 2 et 3 sont regroupées entre elles et opposées le long de l'axe 2. Le critère de visibilité des noyaux du pancréas (PA_NU) de modalité 2 est plus proche des modalités 1 proches du grade 1 alors que l'absence de vacuoles dans le foie (LI_VA.1) est plus proche des modalités 2, proches du grade 2.

Pour le sprat, les modalités 1 des critères sont réparties le long des axes 1 et 2 simultanément, contrairement aux modalités 2 et 3 qui se répartissent le long de l'axe 1, au centre et en partie négative respectivement.

Les IndVals des critères et modalités ont été calculées pour chaque grade pour les trois espèces afin de déterminer les critères et modalités associés aux grades. Les IndVals significativement associées à chaque grade ont été répertoriées dans le Tableau 19.

Tableau 19 | IndVals significatives de chacun des critères et modalités pour chaque grade et espèce. Les cases barrées correspondent aux critères non notés. Les cases grises correspondent à une absence de significativité de la IndVal. Les acronymes sont ceux utilisés dans le chapitre 3.2.

	Grade 1			Grade 2			Grade 3		
	Merlan	Sole	Sprat	Merlan	Sole	Sprat	Merlan	Sole	Sprat
MI_CH_1	0,19	0,45	0,72						
MI_BB_1		0,20	0,43						
MI_TO_1		0,57							
HI_CH_1		0,4							
HI_BB_1	0,34	0,38							
HI_TO_1	0,81	0,65							
LI_CY_1		0,39	0,33						
LI_NS_1		0,2	0,33						
LI_ST_1	0,45	0,35	0,41						
LI_TO_1	0,48	0,35							
LI_VA_1		0,58							
PA_NU_1	0,25	0,19	0,38						
PA_TO_1	0,45	0,53	0,33						
MI_CH_2									
MI_BB_2									
MI_TO_2			0,42		0,32				
HI_CH_2					0,32				
HI_BB_2					0,26				
HI_TO_2					0,35				
LI_CY_2				0,48	0,3				
LI_NS_2		0,29							
LI_ST_2									
LI_TO_2			0,68						
LI_VA_2					0,43				
PA_NU_2	0,63								
PA_TO_2					0,4				
MI_CH_3								0,4	0,42
MI_BB_3								0,42	0,48
MI_TO_3								0,45	0,48
HI_CH_3								0,54	
HI_BB_3								0,54	
HI_TO_3							0,46	0,57	
LI_CY_3								0,71	
LI_NS_3								0,56	
LI_ST_3								0,62	
LI_TO_3							0,49	0,57	0,55
LI_VA_3								0,63	
PA_NU_3							0,5	0,48	
PA_TO_3							0,6	0,46	0,51

On observe sur le Tableau 19 que tous les critères de modalité 1 chez la sole sont associés au grade 1. Pour le sprat et le merlan les vacuoles du foie (LI_VA_1) et l'organisation tissulaire de l'intestin moyen (MI_TO_1) ne sont pas associées significativement au grade 1. Certains critères de modalité 2 sont associés au grade 1, notamment l'organisation tissulaire de l'intestin moyen (MI_TO_2) et du foie (LI_TO_2) pour le sprat; le placement du noyau des hépatocytes (LI_NS_2) pour la sole et celui des noyaux du pancréas (PA_NU_2) pour le merlan. Concernant le

grade 2, seul un critère (LI_CY_2) possède une IndVal significative pour le merlan. Aucun critère n'est associé au grade 2 pour le sprat. La moitié des critères de modalité 2 apparaît significativement liée au grade 2 chez la sole, tandis que la totalité des critères de modalité 3 est associée au grade 3. Pour le merlan et le sprat, c'est principalement l'organisation tissulaire en modalité 3, excepté celle de l'intestin moyen, des organes qui ressort liée au grade 3.

2.1.2 Croissance

Les taux de croissance (G_i) des trois espèces sont présentés en Figure 42. Le G_i est significativement différent entre les trois espèces (test Kruskal-Wallis : $P < 0,01$). Le merlan a les valeurs de G_i les plus fortes qui varient de 0,03 à 1,65 jours⁻¹ avec une moyenne mesurée à $0,6 \pm 0,4$ jours⁻¹. La sole montre une gamme de valeurs comprises entre 0 et 0,59 pour une moyenne de $0,21 \pm 0,1$ jours⁻¹. Enfin, le sprat possède les valeurs de G_i les plus faibles allant de 0,01 à 0,4 avec une moyenne de $0,13 \pm 0,09$ jours⁻¹.

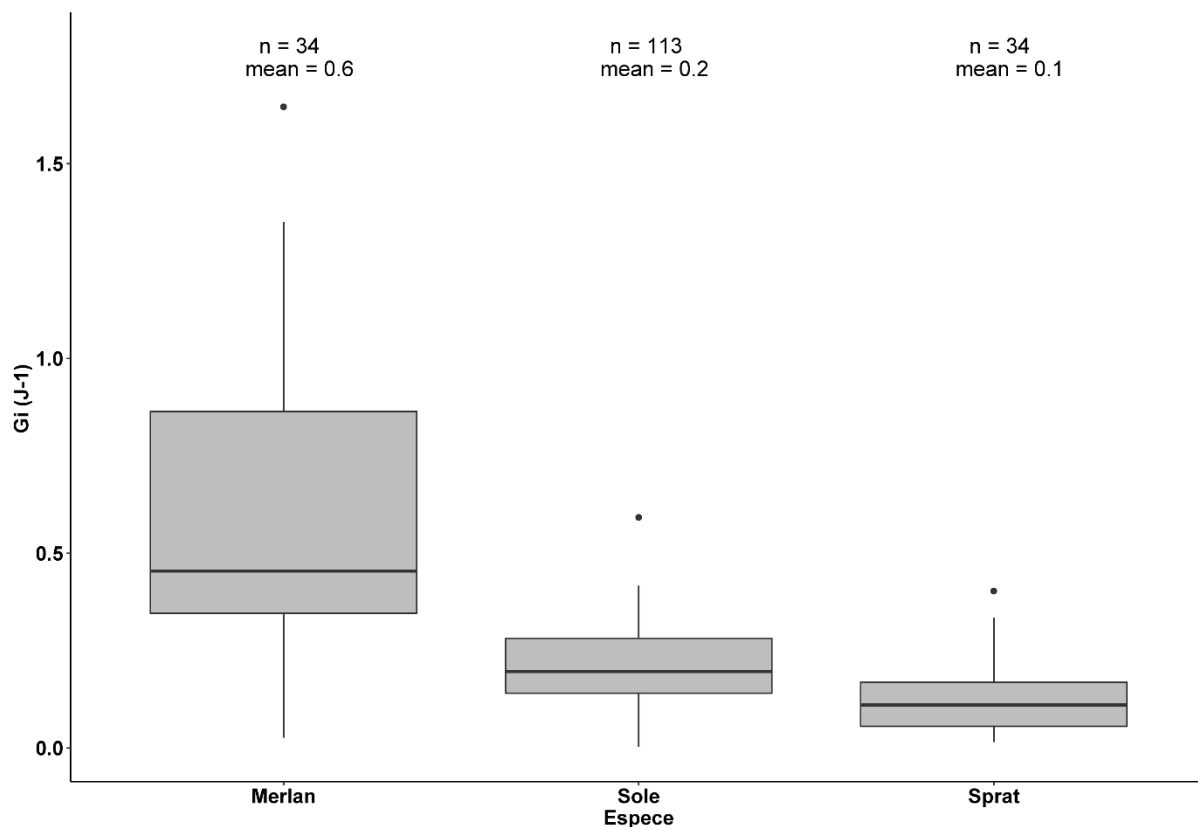


Figure 42 | Boîtes à moustache du taux de croissance instantané (G_i) des trois espèces. Mean : moyenne.

Le taux de croissance en fonction de la quantité d'ADN comme proxy de la biomasse a également été étudié. Les résultats obtenus sont présentés en Figure 43.

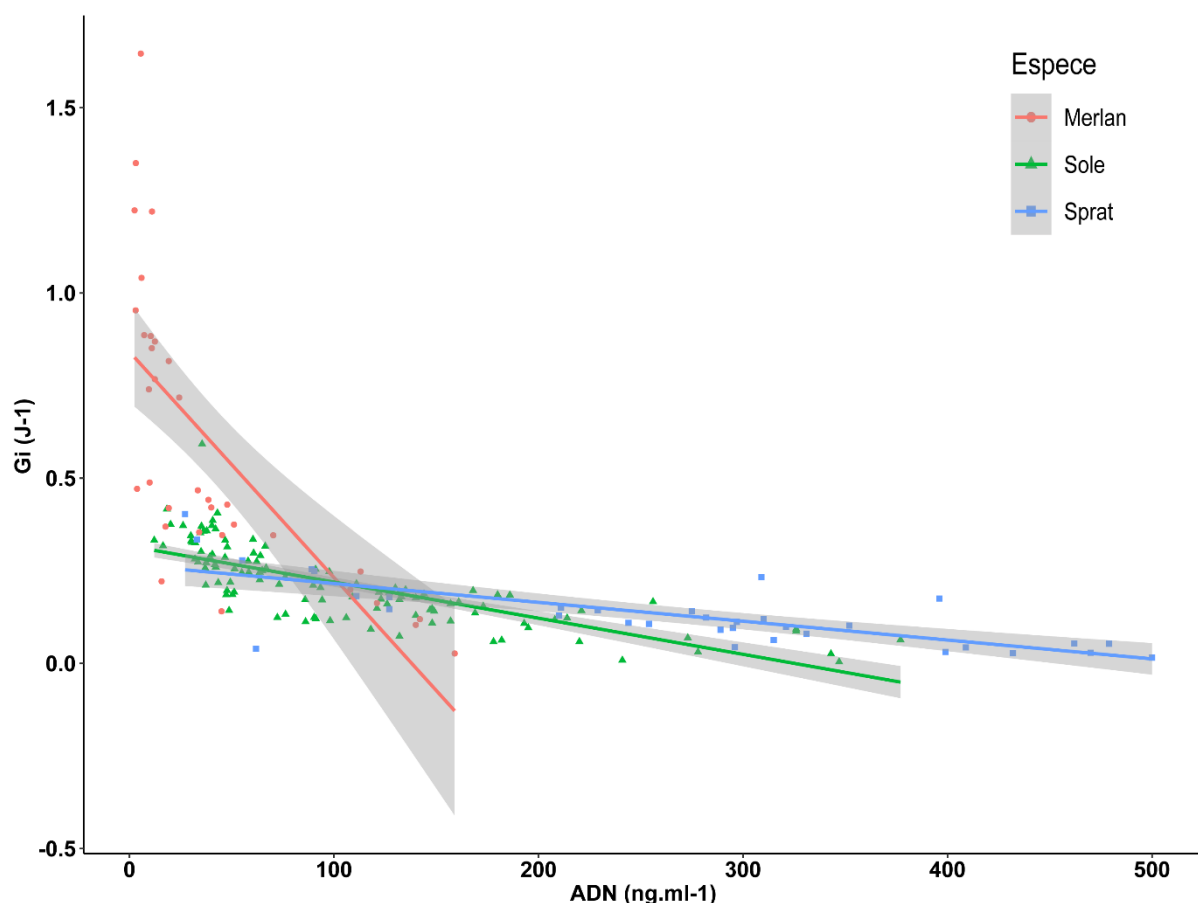


Figure 43 | Régression linéaire du G_i en fonction de la quantité d'ADN comme proxy de la biomasse. La partie grisée représente l'erreur standard (SE).

On observe pour chaque espèce une baisse du G_i en fonction de la quantité d'ADN avec un effet significatif de l'espèce (ANOVA : $F(2,177) = 41,2$; $P < 0,01$). La comparaison des pentes deux à deux indique une différence statistique entre le merlan comparé aux deux autres espèces (Tukey : $P < 0,01$). Le modèle linéaire ne semble pas le plus approprié pour le merlan, montrant une décroissance exponentielle. La sole et le sprat ne possèdent pas de pentes significativement différentes ($P = 0,12$). Les résultats des modèles linéaires par espèces sont donnés dans le Tableau 20.

Tableau 20 | Sorties des modèles linéaires du Gi en fonction de la quantité d'ADN. SE : erreur standard.

Espèce	Origine	Pente	SE	F	R ² adj	P
Merlan	0,84	-6,09.10 ⁻³	1,09.10 ⁻³	30,82	0,47	<0,01
Sole	0,32	-9,75.10 ⁻⁴	7,77.10 ⁻⁵	157,17	0,58	<0,01
Sprat	0,22	-5,08.10 ⁻⁴	7,75.10 ⁻⁵	43,03	0,56	<0,01

Etant donné que la taille possède un effet significatif sur le taux de croissance, l'indice résiduel IR a été calculé pour supprimer l'effet de la taille sur le taux de synthèse protéique.

Afin d'explorer comment les indices nucléiques (Gi et IR) sont influencés par l'environnement, une RDA a été réalisée pour chaque espèce en intégrant toutes les variables disponibles, avant d'être simplifiée pour éliminer les variables colinéaires et/ou non significatives (Tableau 21).

Tableau 21 | Résultat des RDA complètes et simplifiées. P : 0 = *; <0,001 = **; <0,01 = *.**

	Merlan		Sole		Sprat	
Modèle	Complet	Simplifié	Complet	Simplifié	Complet	Simplifié
R ² adj	0,64	0,6	0,26	0,27	0,36	0,3
Variance exp.	77%	65%	35%	22%	61%	34%
P-value						
Bathymétrie	0,04		0,76	0,02*	0,33	
Température	0,15		0,01*	0,03*	<0,01***	
Salinité	<0,01***	<0,02*	0,96		0,37	
Chlorophylle	<0,01**	<0,01***	<0,01**	0,02*	0,08	
Pheopigments	<0,01***		0,04*		0,96	
MES	<0,01***		0,08	<0,01**	0,26	
Dist. côte	0,12		<0,01***	<0,01**	0,17	
Bedstress	<0,01**		0,33		0,97	
Ab. Plancton	0,55		0,06		0,15	
Campagne	<0,01**		0,32	0,02*	0,59	<0,01***
Zone	0,94	<0,01***	0,09		0,03*	

Pour toutes les espèces, le modèle complet était le plus performant (par rapport au modèle simplifié) expliquant entre 35% et 77% de la variance pour la sole et le merlan respectivement. Six variables sont significatives pour le merlan : la salinité, la chlorophylle, les phéopigments, la MES le bedstress, et la campagne d'échantillonnage. Après simplification, seule la salinité et la chlorophylle auparavant significatives ont été conservées. La zone qui n'expliquait pas plus de variance en présence de toutes les variables, a désormais un effet significatif dans le modèle simplifié. Quatre variables sont significatives pour la sole : la température, la chlorophylle, les phéopigments et la distance à la côte. La simplification du modèle a enlevé les phéopigments auparavant significatifs mais la MES, la campagne et la bathymétrie sont ressorties comme expliquant significativement la variance des indices nucléiques en association avec la température, la chlorophylle et la distance à la côte. Pour le sprat, le modèle complet explique 61% de la variance observée, avec deux variables significatives : la température et la zone. La simplification du modèle a fait ressortir la campagne comme expliquant à elle seule 34% de la variance expliquée. Les modèles simplifiés ont été représentés (Figure 44).

Le Gi et IR du merlan sont associés positivement avec la teneur en chlorophylle et négativement avec la salinité; cela illustre l'importance de la zone côtière. Tandis que le Gi du merlan est plus corrélé avec la zone Nord, l'IR est plus lié à la zone des trois estuaires.

Pour la sole, le Gi est négativement lié à la température, et l'IR à la distance à la côte et à la MES. Le Gi est plus corrélé positivement à la campagne REIVE 1 tandis que l'IR l'est plus pour la campagne PHYCO. La chlorophylle est corrélée négativement au Gi et à l'IR.

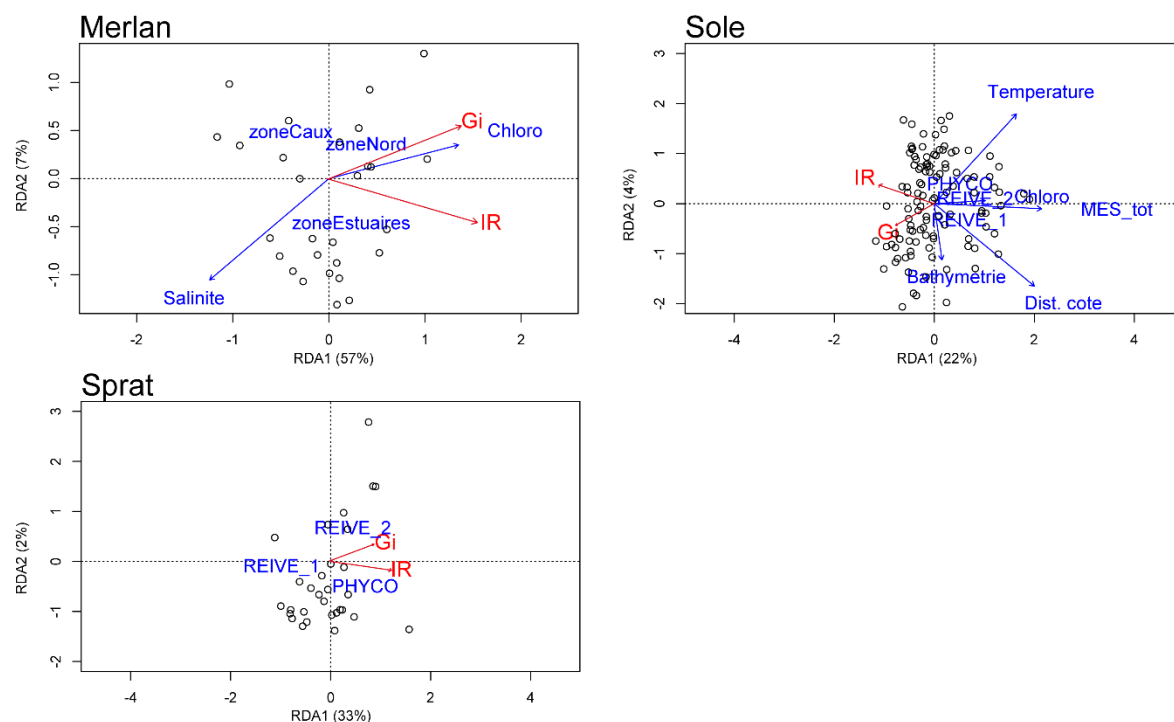


Figure 44 | Représentation graphique des RDA des indices nucléiques contraints par les variables du modèle simplifié. Les variables bleues sans flèche sont les variables nominales.

Pour le sprat les indices sont affiliés positivement à PHYCO et REIVE 2, et opposés à REIVE 1.

2.2 Variations temporelles

2.2.1 Condition physique

La proportion des différents grades histologiques notés de 1 à 3 est représentée pour chaque espèce suivant les différentes campagnes (Figure 45).

Pour les trois espèces, on observe la plus forte proportion d'individus de grade 3 en mai (REIVE 2). Seul le merlan possède une plus forte proportion de grade 1 au mois de mai comparé à avril (PHYCO). Pour la sole, c'est en mars (REIVE 1) que le plus grand nombre de grade 1 a été rencontré. Aucune larve de sprat de grade 1 n'a été trouvée durant mai.

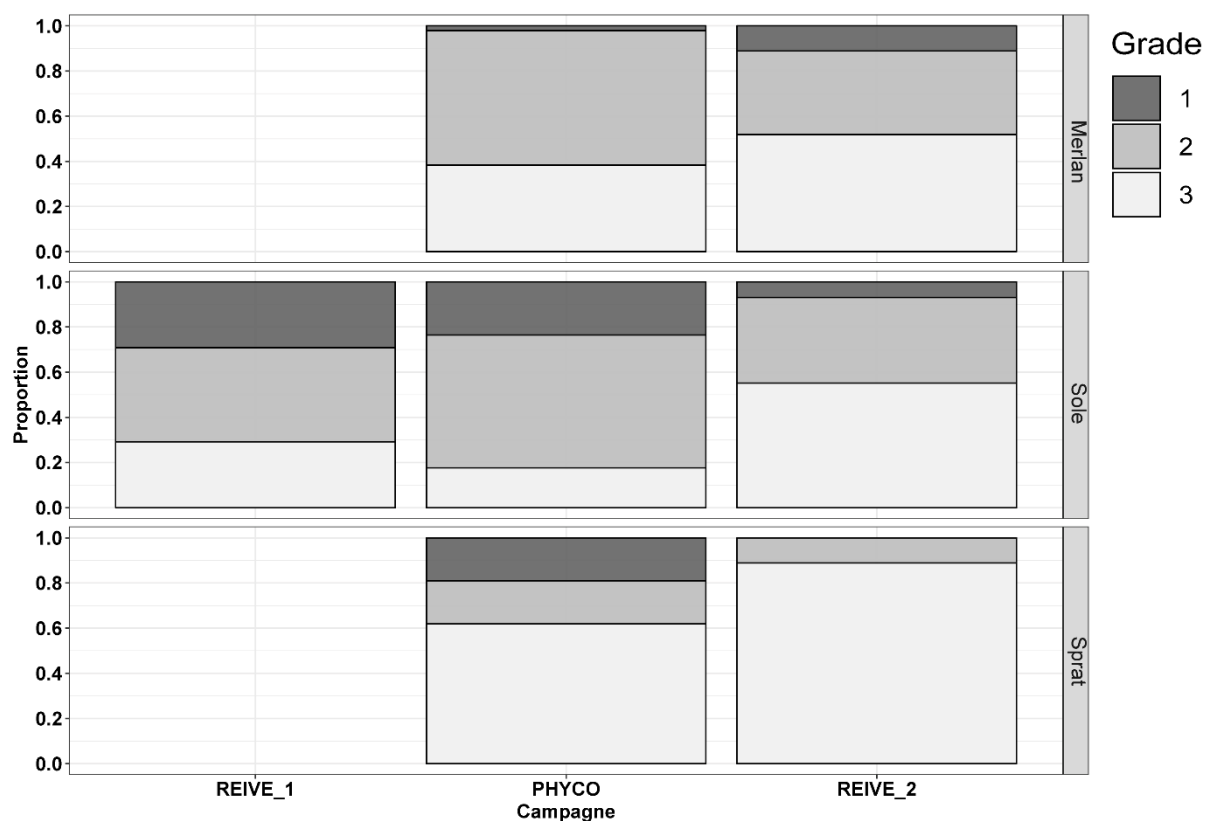


Figure 45 | Proportion des trois grades histologiques pour chacune des trois espèces en fonction des campagnes. Grade 1 : mauvaise condition ; grade 2 : intermédiaire ; grade 3 : bonne condition. REIVE 1, mars ; PHYCO, avril ; REIVE 2, mai.

2.2.2 Croissance

Les taux de croissance ont été représentés en fonction des trois campagnes pour chacune des espèces. Etant donné qu'un effet de la taille a été démontré sur le Gi, l'IR a également été représenté (Figure 46).

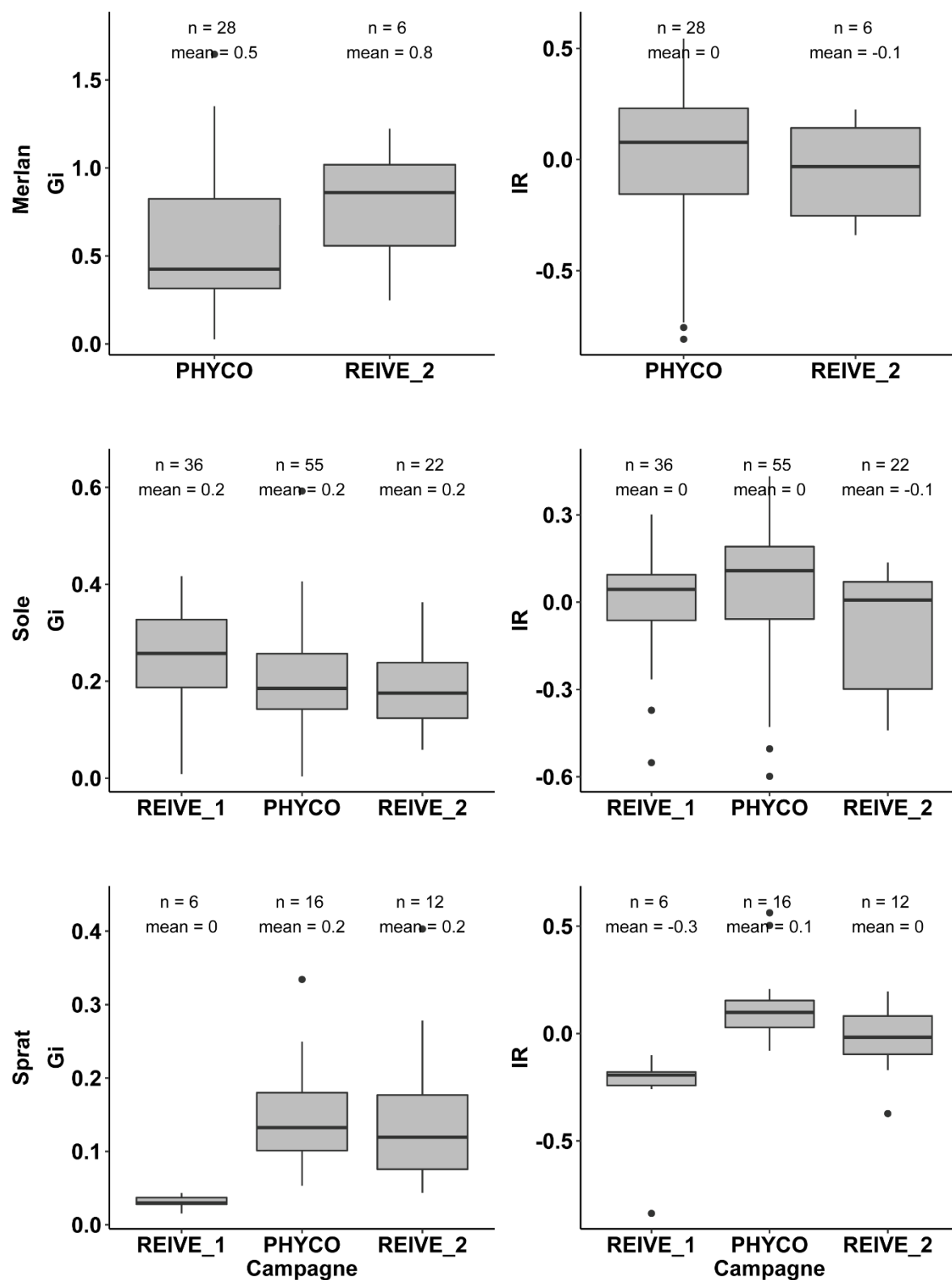


Figure 46 | Distribution des valeurs mesurées de Gi (Jours⁻¹) et IR en fonction des campagnes d'échantillonnage pour le merlan, la sole et le sprat. Mean : moyenne. REIVE 1, mars ; PHYCO, avril ; REIVE 2, mai.

Dû à une absence d'homogénéité des variances entre les différentes campagnes (test F de variance, $P < 0,05$), Le Gi et l'IR de chaque espèce ont été comparés par paires à l'aide du test non paramétrique de comparaison multiple de Dunn, avec ajustement de la p-value selon la méthode de Bonferroni. Un test de Wilcoxon a été appliqué pour le merlan car cette espèce n'a été analysée que pour deux campagnes. Les résultats des tests ont été résumés dans le Tableau 22.

Tableau 22 | P-value des tests de Dunn avec correction de Bonferroni (test de Wilcoxon pour le merlan) de la comparaison des Gi et IR relevés entre les campagnes d'échantillonnage. P : 0 = *; <0,001 = **; <0,01 = *.**

	Gi			IR		
		PHYCO	-		PHYCO	-
Merlan (Test de Wilcoxon)	-	-	-	-	-	-
	REIVE 2	0,1	-	REIVE 2	0,44	-
Sole		PHYCO	REIVE 1		PHYCO	REIVE 1
	REIVE 1	0,04*	-	REIVE 1	0,5	-
	REIVE 2	0,9	0,04*	REIVE 2	0,02*	0,42
Sprat		PHYCO	REIVE 1		PHYCO	REIVE 1
	REIVE 1	<0,01***	-	REIVE 1	<0,01***	-
	REIVE 2	0,99	<0,01***	REIVE 2	0,09	0,08

Pour le merlan, le Gi n'est pas significativement différent entre les deux campagnes (Test Wilcoxon : $W = 47$; $P = 0,1$) alors qu'il semblait plus élevé pendant REIVE 2. Une fois l'effet de la taille enlevé, la relation s'inverse pour l'IR mais toujours de manière non significative ($W = 101$; $P = 0,44$).

Le Gi des individus de sole pendant la campagne REIVE 1 (mars) est plus élevé que durant les autres campagnes (avril-mai). Comparé à PHYCO, l'IR de la sole de REIVE 2 est plus faible.

Le Gi du sprat est très faible pour REIVE 1 et significativement inférieur à celui de PHYCO et REIVE 2. Le IR du sprat pendant REIVE 1 est significativement inférieur à celui de PHYCO au seuil de 5%.

2.3 Variations spatiales

2.3.1 Condition physique

Les proportions des grades histologiques ont été calculées pour le merlan, la sole et le sprat en fonction des trois zones géographiques définies en omettant les données de la sole en mars étant la seule espèce analysée durant ce mois (Figure 47).

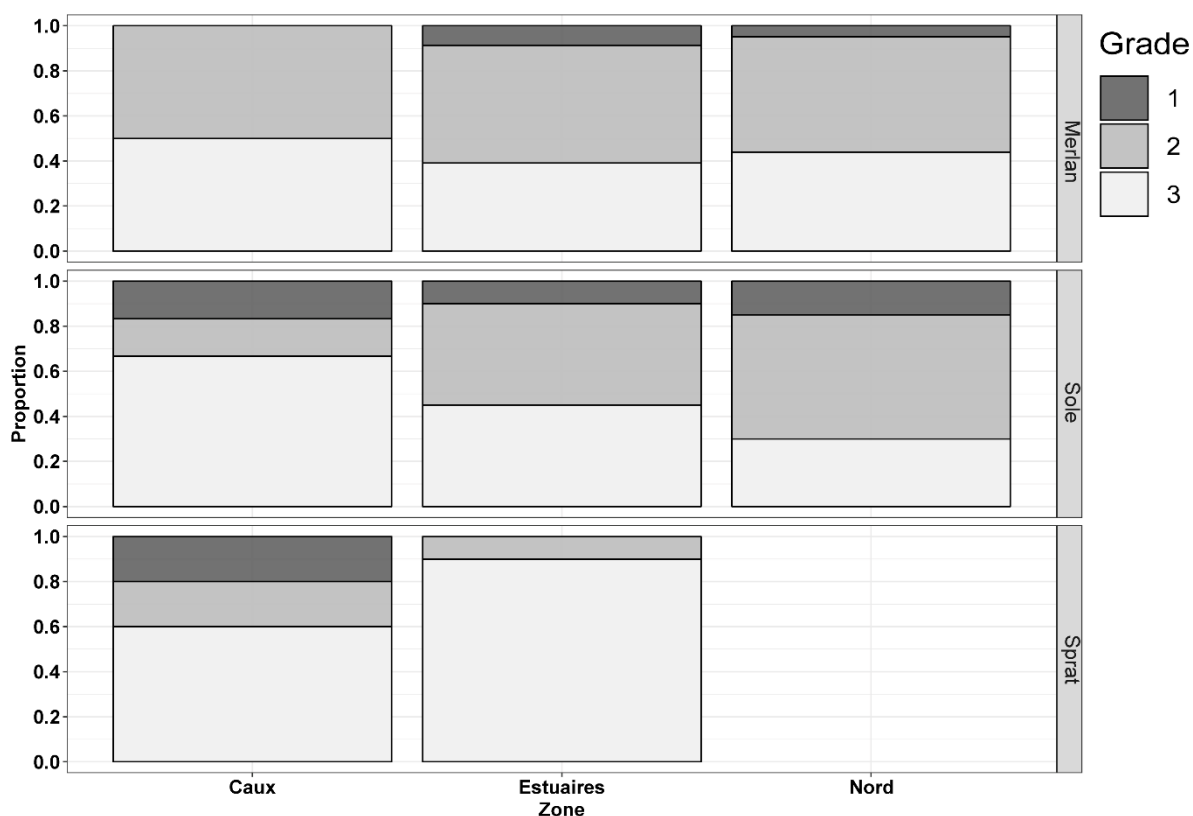


Figure 47 | Proportion des trois grades histologiques pour chacune des trois espèces en fonction des zones. Seules les données issues des campagnes REIVE 2 et PHYCO ont été utilisées. Grade 1 : mauvaise condition ; grade 2 : intermédiaire ; grade 3 : bonne condition.

Pour le merlan, les larves étaient en meilleures conditions au niveau du pays de Caux avec la plus forte proportion d'individus de grade 3 et une absence d'individus de grade 1. La sole montre la plus forte proportion de grade 3 au niveau du pays de Caux et la plus faible dans la zone Nord. Au niveau des trois estuaires, aucun individu de grade 1 de sprat n'a été rencontré contrairement au pays de Caux où près de 20 % des individus analysés étaient en grade 1.

2.3.2 Croissance

La distribution des valeurs de Gi et IR a été représentée en fonction des trois zones pour chacune des espèces (Figure 48).

Les résultats des tests non paramétriques de Dunn ont été renseignés dans le Tableau 23.

Tableau 23 | P-value des tests de Dunn avec correction de Bonferroni de la comparaison des Gi et IR relevés entre les zones d'échantillonnage. P : 0 = *; <0,001 = **; <0,01 = *.**

	Gi			IR		
		Caux	Estuaires		Caux	Estuaires
Merlan	Estuaires	1	-	Estuaires	0,02*	-
	Nord	0,06	0,14	Nord	0,05*	1
Sole		Caux	Estuaires		Caux	Estuaires
	Estuaires	0,03*	-	Estuaires	0,22	-
	Nord	0,98	0,04*	Nord	1	0,34
Sprat		Caux	Estuaires		Caux	Estuaires
	Estuaires	1	-	Estuaires	0,19	-
	Nord	1	0,2	Nord	0,68	1

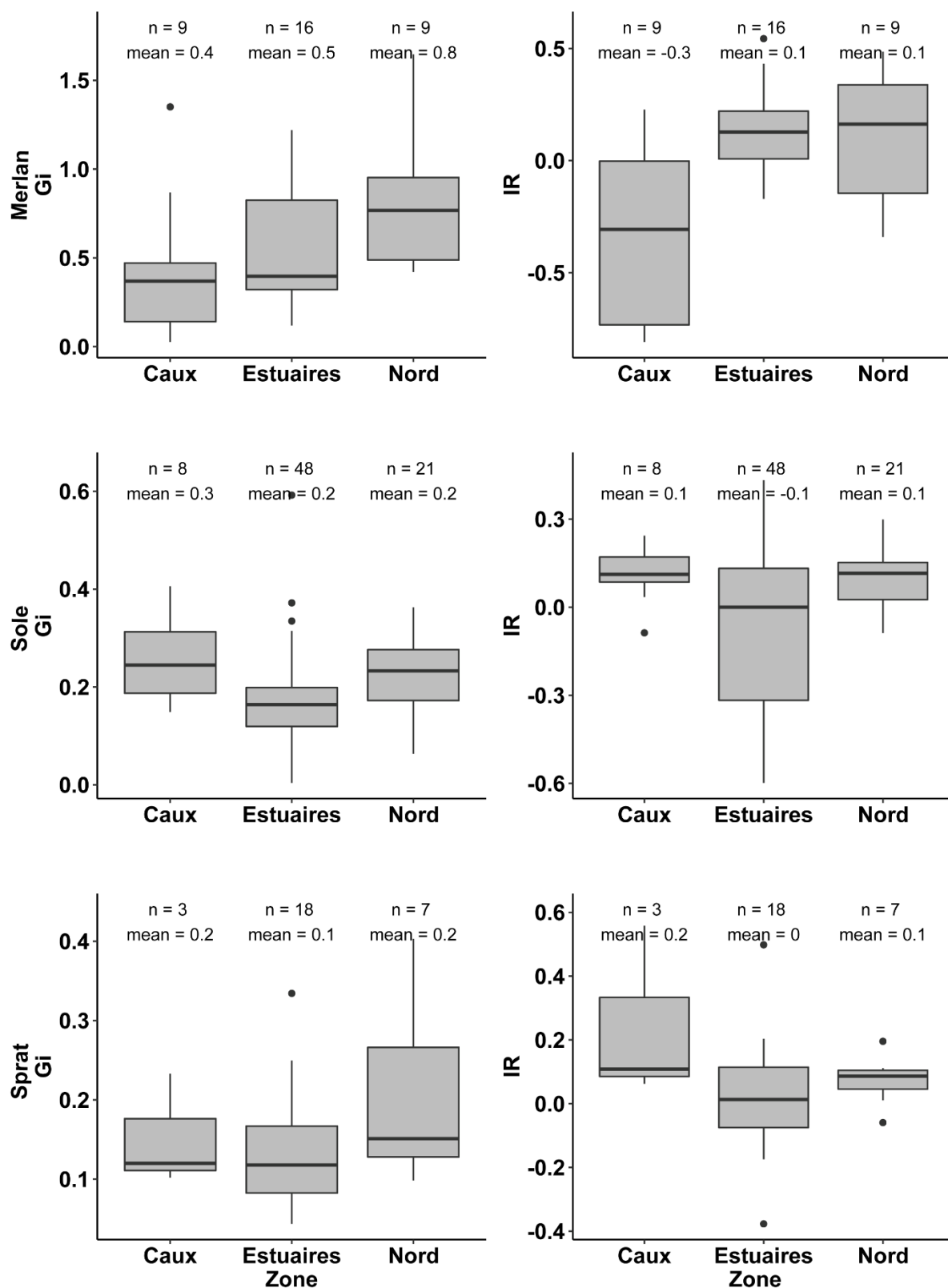


Figure 48 | Distribution des valeurs mesurées de G_i (Jours⁻¹) et IR en fonction des zones d'échantillonnage pour le merlan, la sole et le sprat. Seules les données issues des campagnes REIVE 2 et PHYCO ont été utilisées. Mean : moyenne.

Pour le merlan, le Gi n'est pas différent au seuil de 5 % entre les zones tandis que l'IR en pays de Caux est significativement plus faible qu'au trois estuaires et en zone nord.

La sole possède un Gi significativement plus faible au niveau des estuaires comparé à la zone nord et au pays de Caux. Aucune différence significative n'est observée pour le IR de la sole entre les zones.

Aucune différence statistique du Gi ou de l'IR n'est observable entre les trois zones chez le sprat.

3 Discussion

Les conditions physiques (histologiques) et physiologiques (croissance) des larves de stade 2 de plusieurs espèces ont été comparées afin d'explorer les contraintes spatio-temporelles de la période critique. Des différences sont apparues entre les espèces. Pour une espèce donnée, il a été observé des différences de préférences spatiales et saisonnières en lien avec les variations des conditions environnementales au cours du printemps.

3.1 Pertinence des indices dans l'évaluation des différences interspécifiques de la condition

3.1.1 Indice histologique

L'évaluation histologique de la condition est un indicateur précis du statut nutritionnel (Ferron et Leggett, 1994). Les observations faites sur un individu sont réalisées sur plusieurs organes qui répondent à différents niveaux de jeûne. Un grade de condition a été attribué selon une procédure standardisée (chapitre 3.2) aux individus des trois espèces étudiées.

Suite à la calibration de la méthodologie par sélection de critères d'état des cellules et des organes et à la définition d'une nouvelle échelle de grades pour la sole, il a été vérifié que cette méthodologie pouvait être adaptée à d'autres espèces comme le montrent les ACM. La différenciation des critères en trois modalités associées aux niveaux de dénutrition a permis une bonne ségrégation des grades pour les trois espèces. Ceci est particulièrement vrai pour la sole étant l'espèce sur laquelle cette nouvelle méthodologie a été calibrée. sans qu'il y ait eu de réelles comparaisons, plusieurs auteurs énoncent l'aspect indépendant de cette méthode à l'espèce (Kashuba et Matthews, 1984; McFadzen et al., 1997; O'Connell, 1976; Oozeki et al., 1989; Sieg, 1998; Theilacker, 1978, 1986; Yúfera et al., 1993).

Des différences notables des critères les plus efficaces pour différencier la condition sont apparus entre les espèces. Par exemple, chez les jeunes stades de clupéidés tel que le sprat, l'intestin moyen et postérieur ne sont pas différenciés (O'Connell, 1976). Ainsi, seule la partie antérieure de l'intestin a pu être notée dans ce travail. Le calcul des IndVals a également fait ressortir un certain manque de redondance des critères ayant une modalité 2 chez les larves en condition moyenne (grade 2). En effet, un seul, voir aucun critère n'est apparu significativement lié au grade 2 pour le merlan et le sprat respectivement. Chez la sole, seule la moitié des critères de modalité 2 était liée au grade de condition moyenne. Ces observations indiquent qu'il est globalement plus aisé d'identifier des critères associés à des individus qui sont soit en mauvaise soit en bonne condition puisque la majorité des critères ont des modalités 1 ou 3 respectivement. Pour les conditions moyennes, une majorité de modalité 2 reste vraie mais les critères concernés sont variables entre les individus. Dans le milieu naturel, un individu en santé moyenne peut être le résultat d'une absence d'alimentation depuis un certain temps, ou bien, d'une reprise

alimentaire relativement récente après une longue période de jeûne. Ces deux processus ne conduisent pas à la même condition physique à l'échelle des critères (Bouhlic, 1991) pour des individus en condition globale moyenne.

Pour les trois espèces quelques critères de modalité 2 se sont retrouvés associés au grade 1. Ceci suggère que le niveau le plus bas de ces critères observés *in situ* diffère entre les espèces, comme par exemple l'organisation tissulaire de l'intestin moyen chez le sprat. Ces différences entre espèces ne remettent pas en cause l'efficacité de la gradation histologique mais questionnent sur les variations inter et intraspécifiques des réponses individuelles face au jeûne en milieu naturel, et leurs répercussions sur la condition larvaire. Globalement, les critères d'intégrité tissulaire des organes et de cohésion cellulaire sont ressortis comme des critères robustes pour différencier les grades de condition pour les trois espèces. A l'inverse l'importance des vacuoles du foie, critère qui a été défini comme essentiel pour la sole, n'est pas ressorti comme étant un critère majeur pour les deux autres espèces. Ce résultat reste difficilement interprétable *in situ*. Des études en milieu contrôlé sont nécessaires pour connaître la dynamique du métabolisme des glucides et des lipides en fonction de l'apport trophique quantitatif et qualitatif, faisant varier rapidement ce critère (Zambonino-Infante et al., 2008).

Les grades nous ont permis de voir que durant le printemps 2017 ce sont les larves de sole qui sont apparues comme les plus touchées par le jeûne avec près de 20% des individus rencontrés en condition fortement dégradée, suivi par le sprat. En considérant que ces individus ont atteint un point de non-retour et que même après réalimentation leurs organes sont trop dégradés pour permettre la survie, cela suggère une mortalité importante au cours de la période critique. Or, cette forte proportion d'individus en grade 1 pourrait être sous-estimée du fait de l'élimination

rapide des individus faibles par d'autres pressions environnementales que le jeûne, tel que la prédation ou la maladie (Clemmesen, 1987; Hare et Cowen, 1997; Leggett et Deblois, 1994; Purcell et al., 1987; Rosenthal et Alderdice, 1976).

Dans cette comparaison entre espèces, le merlan a été l'espèce ayant la plus faible proportion d'individus en mauvaise condition pendant la période critique et serait moins touchée par le jeûne. Il est possible que les bonnes conditions rencontrées chez ces larves soient dues au fait que les larves de gadidés se nourrissent d'une plus large gamme de taille de proies que d'autres taxons, dû à une plus grande taille de la bouche (Hunter, 1980). Cette morphologie entraînerait ainsi une meilleure capacité de chasse et donc un meilleur succès de survie face au jeûne durant la période critique.

3.1.2 Indices biochimiques

Le merlan a le taux de croissance le plus élevé comparé au sprat et la sole. Les valeurs obtenues laissent supposer que les larves de merlan de stade 2 vont en moyenne gagner 60% de leur biomasse par jour contre 20% pour la sole et 10% pour le sprat. Cependant, le merlan montre également la plus forte variabilité individuelle.

Le rapport ARN/ADN qui a été développé par Bulow (1970) comme indice d'évaluation du taux de croissance des larves de poissons a été redéfini ensuite comme un indice de condition par Buckley (1979) et Clemmesen (1987). Un effet de la température a été mis en évidence Buckley et al. (2008) sur le niveau de synthèse protéique conduisant ainsi les auteurs à développer un nouvel indice, le Gi, afin de corriger cet effet. Bien que de nombreuses études énoncent le rapport ARN/ADN ou le Gi comme indices de condition (e.g Bailey et al., 1995; Buckley et al., 1999;

Clemmesen, 1994), le niveau de synthèse protéique est connu pour varier avec l'âge, le stade de développement, la taille et des conditions environnementales changeantes (Bulow, 1970; Rooker et Holt, 1996).

Même si cette étude était focalisée uniquement sur le stade de développement 2, soit le début de la nutrition exogène, les résultats ont montré une forte relation négative entre le Gi et la taille pour les trois espèces, surtout pour le merlan. Pour cette espèce, le taux de croissance des plus petits individus était très variable conduisant à une relation croissance-taille décroissante de manière exponentielle et non linéaire comme les autres espèces. La tendance globale représentée par le modèle linéaire a permis cependant de montrer une forte relation négative du taux de croissance avec la quantité d'ADN. Pour retirer cet effet de la taille qui existe même au sein d'un stade de développement, Chícharo et al. (1998) et Chícharo et Chícharo (2008) proposent d'utiliser l'indice résiduel (IR) basé sur la teneur en ARN et une variable indépendante liée à la biomasse de l'individu, supprimant ainsi l'effet allométrique. L'IR n'étant pas dépendant directement de la taille (ou biomasse) des individus, il a permis une meilleure évaluation de la condition physiologique des larves de stade 2 en fonction des variables étudiées. L'IR reste une valeur relative qui doit être comparée en fonction de différents facteurs (e.g zone, saison) car aucune valeur seuil permet de statuer sur la condition des larves. Ainsi, chaque indice testé informe sur un aspect spécifique des conditions trophiques et physiologiques des larves de poissons. Dans le cadre d'études portées sur l'ichtyoplancton *in situ*, les questions sont à définir afin de déterminer quel indice choisir puisque chacun répond à des questions différentes mais complémentaires.

3.2 Influence de l'environnement, du temps et de l'espace sur la croissance et la condition des larves en période critique

Des différences inter-spécifiques ont été mises en évidence en ce qui concerne les facteurs qui influencent la croissance et la condition au cours de la saison et entre les zones.

3.2.1 Merlan

La croissance du merlan (Gi et IR) semble être principalement reliée à des zones à faible salinité et forte productivité phytoplanctonique. La zone correspondant aux trois estuaires est la zone où les plus fortes valeurs de chlorophylle et les plus faibles valeurs de salinité ont été enregistrées (voir chapitre 2). C'est dans cette zone, avec la zone nord, que les plus fortes valeurs de Gi et IR ont été mesurées pour le merlan. A contrario, pour ces deux indices, aucune différence n'a été montrée entre les deux campagnes, laissant supposer un effet spatial prédominant. Concernant l'indice histologique, quelques individus en mauvaise condition ont été rencontrés au niveau des estuaires et en zone Nord. Globalement, Il semble donc qu'au niveau de ces zones, des conditions environnementales favorables à une bonne croissance soient réunies pour le merlan avec toutefois la présence d'individus en mauvaise condition physique.

Ces zones échantillonnées possédaient les plus fortes abondances de larves de merlan comparées aux pays de Caux (chapitre 2). Ainsi, on peut supposer qu'elles sont favorables à la survie du merlan en période critique. Dès lors, les larves évoluent dans un milieu favorable mais pourraient faire face à une forte compétition intraspécifique pouvant conduire à la présence d'individus en mauvaise condition nutritionnelle.

3.2.2 Sole

Pour la sole, les plus forts Gi se retrouvaient aux stations à faible température tandis que l'IR était plus élevé en zones éloignées de la côte et à faible concentration en MES. Ces indices étaient également reliés négativement à la concentration en chlorophylle. Ces conditions environnementales correspondent aux stations éloignées de la côte ou de début de saison, excepté pour la chlorophylle plus élevée en mars (chapitre 2). Ces paramètres sont également plus élevés dans la zone estuarienne, là où le Gi de la sole était le plus faible et l'IR le plus variable. Ainsi, la croissance des larves de soles est apparue être plus élevée en milieu non côtier. La plus forte proportion de larves en mauvaise santé d'après l'histologie a été observée en mars durant REIVE 1, lorsque les larves étaient aux stations éloignées de la côte, que les températures étaient les plus froides (chapitre 2) et que les larves de soles étaient les plus petites (chapitre 3.1).

Ces résultats indiquent que condition physiologique (croissance) et condition physique (histologie) sont non corrélées chez les soles en période critique. Comme pour le merlan, les conditions environnementales favorisant la croissance des larves de soles se retrouvent au sein de zones et/ou périodes où la condition physique était la plus mauvaise. En effet, les larves de début de saison évoluent dans des eaux plus froides, au large, avec un plus fort taux de croissance, conduisant à une plus forte sensibilité au jeûne (Montero-Serra et al., 2015). Au contraire, là où une majorité de larves en bonne santé est observée, la sole possédait un plus faible taux de croissance. En zone côtière, notamment au niveau des estuaires, il a été montré que les conditions des larves de soles étaient globalement bonnes (chapitre 3.1) alors que la croissance y était la plus faible. Il semblerait ainsi que la croissance diminue une fois que les larves se trouvent dans des zones favorables. Une

hypothèse probable serait un début de stockage de l'énergie. En effet, un des critères les plus informatif du grade 1 est l'absence de vacuoles au niveau du foie comparé aux deux autres grades. Ainsi, en conditions favorables les larves de sole pourraient diminuer leur croissance de manière à produire des réserves leur permettant de pouvoir faire face à une période de jeûne (Giraldo, 2012).

3.2.3 *Sprat*

La croissance du sprat et son IR sont apparus corrélés positivement avec la température avec un fort effet de la période d'échantillonnage. Ainsi, les plus forts taux de croissance et valeurs d'indice résiduel ont été rencontrés durant REIVE 2 et PHYCO. Aucune différence significative de ces indices n'a été observée entre les différentes zones. Peu d'individus issus de la zone du pays de Caux ont pu être analysés pour les indices biochimiques, ne permettant pas de statuer clairement. Alors que les valeurs d'IR les plus élevées ont été mesurées sur les individus issus de PHYCO, c'est durant REIVE 2 que la plus forte proportion d'individus de grade 3 a été observée. Ainsi, avec l'augmentation de la température au cours de la saison (chapitre 2), il semblerait que la condition s'améliore indépendamment de la zone d'étude contrairement à la sole et au merlan.

3.3 ***L'approche multi méthode et multi spécifique***

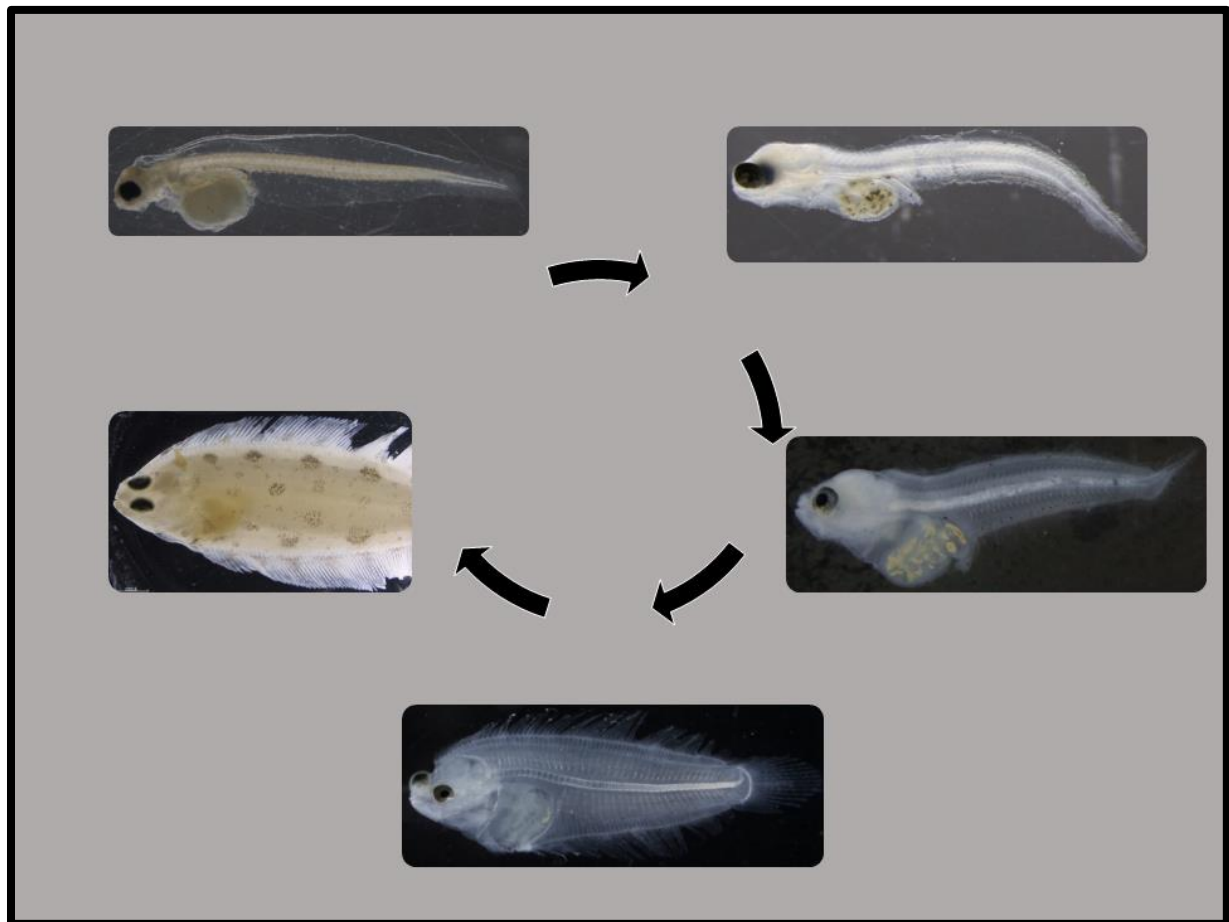
A notre connaissance cette étude est la première qui compare la variabilité de la condition larvaire de trois espèces différentes au cours de la même saison et dans une même zone. Cette comparaison a été réalisée à l'aide d'une approche combinant plusieurs indices différents. C'est également la première fois que la condition du sprat et du merlan, deux espèces d'intérêt écologique et halieutique et importants pour la zone, est étudiée. En combinant l'histologie avec un indice de croissance tel que le Gi, il a pu être montré que croissance et condition n'étaient pas

toujours positivement liées, et que cette relation était dépendante de l'espèce. Le Gi a permis de comparer les croissances et de calculer un indice de croissance résiduel IR indépendant de la taille et mieux relié au statut nutritionnel des individus (Chicaro et Chicaro, 2008). Ces deux indices combinés à l'histologie ont permis d'étudier les variations de croissance et de condition rencontrées par les larves en fonction de paramètres changeants. Ainsi, pour la sole et le merlan, la croissance est favorisée dans les zones ou les périodes ayant la plus forte proportion d'individus en jeûne sévère. Pour le sprat, la croissance augmente au cours de la saison en lien avec l'augmentation de la température. Cette espèce semblait cependant moins dépendante des différences locales (les trois zones) ou entre le milieu côtier et le large.

L'utilisation de plusieurs indices en combinaison semble nécessaire pour formuler des tendances spécifiques de préférences environnementales en milieu non contrôlé. C'est grâce à une approche multi indices que Denis et al. (2017) ont montré les variations ontogéniques de croissance et de condition rencontrées par les larves de hareng au cours de leur développement. Les auteurs ont conclu que parmi les quatre indices utilisés, deux suffisaient pour définir la condition larvaire, l'ADN/C (rapport ADN sur carbone) qui était relié à la nutrition (comme l'histologie), et le Gi, qui lui reflétait la croissance. L'étude a montré une baisse de la croissance à partir de 13mm. Cependant, l'utilisation de l'ADN/C plus relié au statut nutritionnel a permis de montrer que cette baisse n'était pas liée à une moins bonne condition nutritionnelle étant donné que les valeurs de l'ADN/C traduisaient au même moment le rétablissement d'un meilleur état nutritionnel. Comme énoncé par les auteurs, l'utilisation d'un indice complémentaire traduisant le niveau de réserves énergétiques tel que l'observation histologique des vacuoles de réserves ou la mesure de la

quantité de triglycérides permettrait de statuer sur un éventuel changement de stratégie d'allocation de l'énergie de la croissance vers le stockage. De ce fait, afin de mieux comprendre la dynamique de la condition de l'ichtyoplancton en lien avec les changements environnementaux et ontogéniques, un choix pertinent est à faire dans la sélection des indices disponibles pour répondre à une question aussi complexe que la probabilité de survie des cohortes larvaires.

Chapitre 5: Ontogenetic shift in the energy allocation strategy and physiological condition of larval plaice³



³ Published as Di Pane J., Joly L., Giraldo C., Tavernier E., Monchy S., Koubbi P., Marchal P. & Loots C. (2019). Ontogenic shift in the nutritional condition and energy allocation strategy of larval plaice (*Pleuronectes platessa*). *PlosOne*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222261>

Flatfishes experience drastic behavioural and anatomical changes from pelagic and bilaterally symmetrical larvae into asymmetric benthic juveniles (Ahlstrom et al., 1984). This transitional stage, called metamorphosis, is accompanied by settlement in nursery areas (Beck et al., 2001). It is during this transition towards nearshore nursery grounds that the survival of flatfish early life stages relies on favourable transports (Barbut et al., 2019; van Beek et al., 1989; Hufnagl et al., 2013) and then density-dependent (Beverton, 1995; Nash and Geffen, 2000; Petitgas et al., 2013; van der Veer et al., 2000). Hence, the recruitment variability of flatfish depends on the survival of both larval and early juvenile stages making these development phases bottlenecks in the dynamic of fish populations (Le Pape and Bonhommeau, 2015; Levin and Stunz, 2005). Prey availability is thought to be one of the main factors limiting the carrying capacity of flatfish nursery grounds (e.g Craig et al., 2007; Gibson et al., 2014; Nash and Geffen, 2000a; Nash et al., 2007; van der Veer and Witte, 1993), including plaice (*Pleuronectes platessa*) (e.g Ciotti et al., 2010; Fonds et al., 1992; Selleslagh and Amara, 2013; Veer et al., 2010; Wennhage and Gibson, 1998). Thus, post larvae reaching the coasts in a poor condition would be less able to handle competition interactions for food in their new habitat while individuals with large amount of energy reserves will be less impacted by starvation. The study of larval condition is therefore an important issue in fisheries biology and ecology.

In this study, we combined biochemical (Gi and TAG:Chol) and histological condition indices to evaluate the ontogenetic variations in growth performance, lipid dynamics and nutritional condition of plaice larvae. The aim was to evaluate growth rates of different development stages of plaice larvae caught *in situ*. By using neutral lipid, we investigated the proportion of energy reserves available. Subsequently, histological observations were made in order to integrate the larval condition. Finally,

we compared the results obtained by these different indices to unravel the energy allocation strategy of plaice larvae during their ontogeny.

1 Data analyses

1.1 Data acquisition

Plaice larvae were sampled during the International Bottom Trawl Survey in 2017 (cf. chapter 1). Samples were sorted and staged from the eastern part of the English Channel as well as the Southern Bight of the North Sea depending on indices (Figure 49).

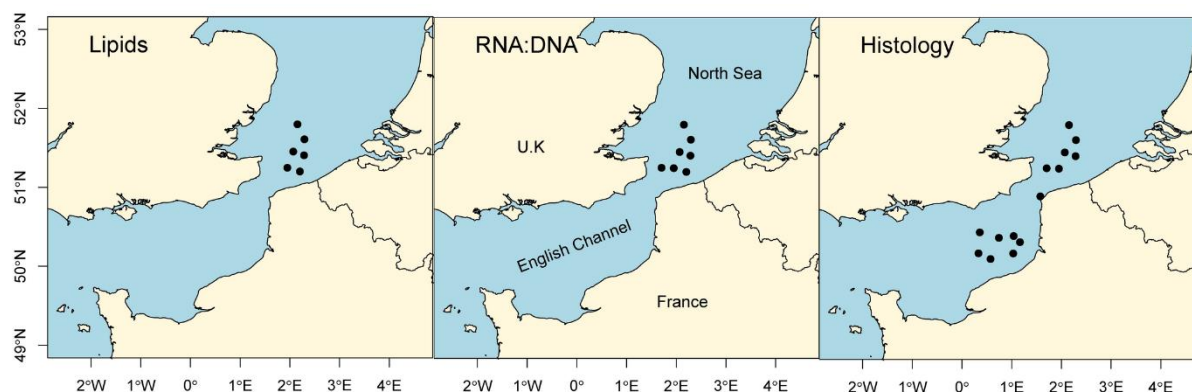


Figure 49 | Sampling stations where larvae were sorted for analysis.

For each larva, a picture was taken in order to measure the standard length (SL) using an image analysis software (IMAGEJ 1.46) and SL was rounded to the inferior millimetre. Biochemical analyses (Gi and lipids) were performed as described in chapter 1. Histological indices were realised following the gradation method described in chapter 3.2 and used in chapter 4. Additionally, a score was also given to the liver vacuoles state. Score 1 indicated absence of vacuoles; score 2 corresponded to a liver with rare and scattered vacuoles while score 3 individuals showed numerous and wide vacuoles. Numbers of individuals used for each analysis are presented in Table 24.

Table 24 | Number of individuals by development stage used for each analysis.

Stage	2	3	4
Standard length	150	462	67
G _i	33	18	29
Total lipids content	17	43	7
TAG:Chol	10	30	8
Histological indices	39	32	23

1.2 Statistical analyses

Statistical analyses were performed under the R software (R core Team, 2019) with a threshold of significance fixed at 5%. Size ranges for each development stage were calculated on frozen larvae. Before groups' comparison, normality (Shapiro's test) and homoscedasticity (Fisher's test) of raw data was checked. When parametric test application conditions were met, an ANOVA followed by a post hoc HSD Tukey test were performed. For non-Gaussian data, a log transformation was performed. G_i, TL and TAG:Chol values were compared between development stages. Additionally, linear models were performed on indices values depending on size data. Normality of residuals was verified to evaluate model relevance. For histological indices, a graphic description of the proportion of each grade and liver vacuoles score was made by development stages. Since the sampling area of larvae used for histological samples was more extended than for others indices (it also includes samples from the eastern English Channel), a Pearson's Chi² test was applied to test dependency of histological grades and development stages between the eastern English Channel and the Southern Bight of the North Sea. Finally, in order to combine all indices, three quantiles (low, medium and high) were defined for TAG:Chol and G_i values. Number of individuals by stage in each quantile and histological grades and vacuoles

scores were assessed. A correspondence analysis was performed on this table made with stages in rows and indices levels in column.

2 Results

2.1 Size distribution per development stages

A total of 679 plaice larvae were measured with size ranging from 4 to 13 mm (mean = 8.1 mm $\pm$ 1.4 mm) corresponding to individuals of stages 2, 3 and 4. No stage 1 nor 5 was caught during the survey. Transition between stage 2 and 3 was observed at a standard length (SL) between 7 and 8 mm. Larvae of stage 4 were observed from 9 mm (Figure 50).

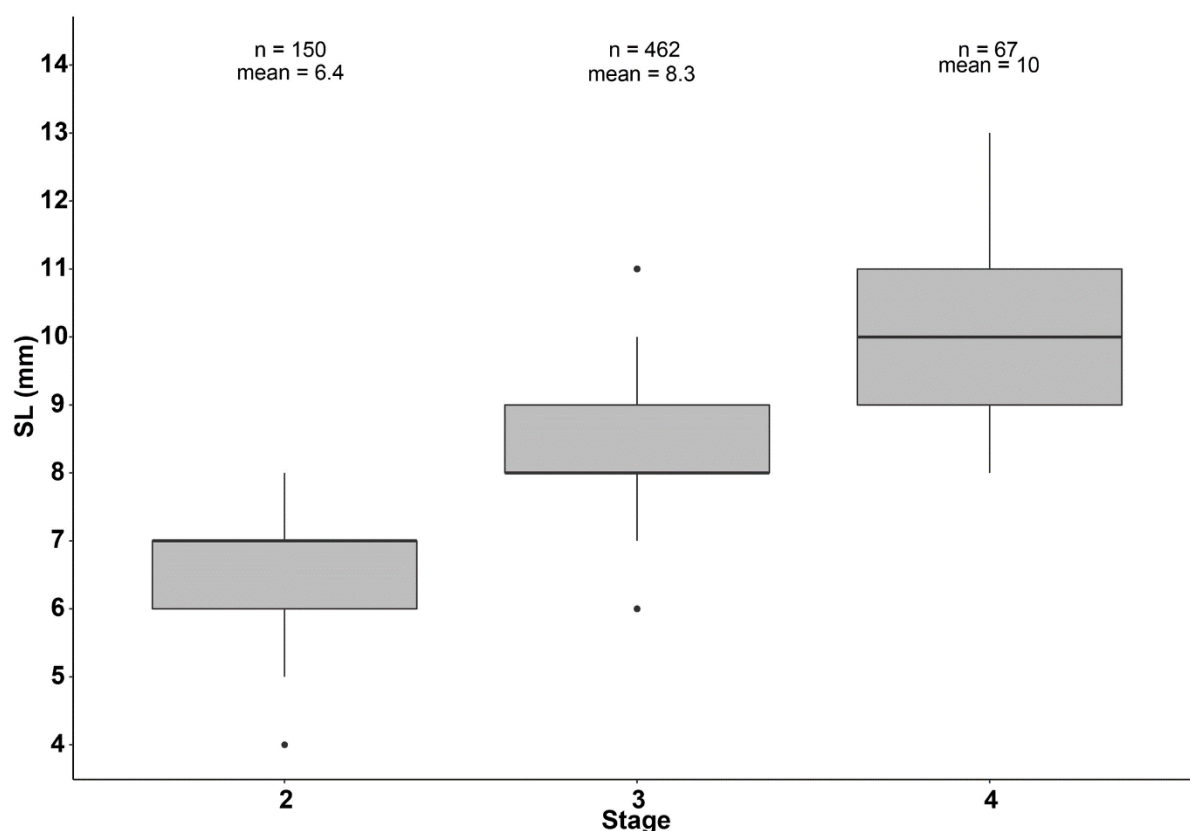


Figure 50 | Range of SL observed for each development stage.

2.2 Biochemical indices

The G_i , total lipids content and TAG:Chol index were calculated for each development stage (Figure 51).

The G_i varied from 0 to 1.92 with a mean of 0.52 ± 0.43 days⁻¹ ($n = 80$). Medians or means per stage were always positive and non-null (Figure 51A). G_i was significantly different between stages (ANOVA, $F(2,77) = 3.5$; $P = 0.03$). Post hoc Tukey test found a higher G_i for stages 3 compared to stage 4 ($P = 0.04$). G_i of the stage 2 showed no significant differences with the stage 3 ($P = 0.58$) and stage 4 ($P = 0.16$).

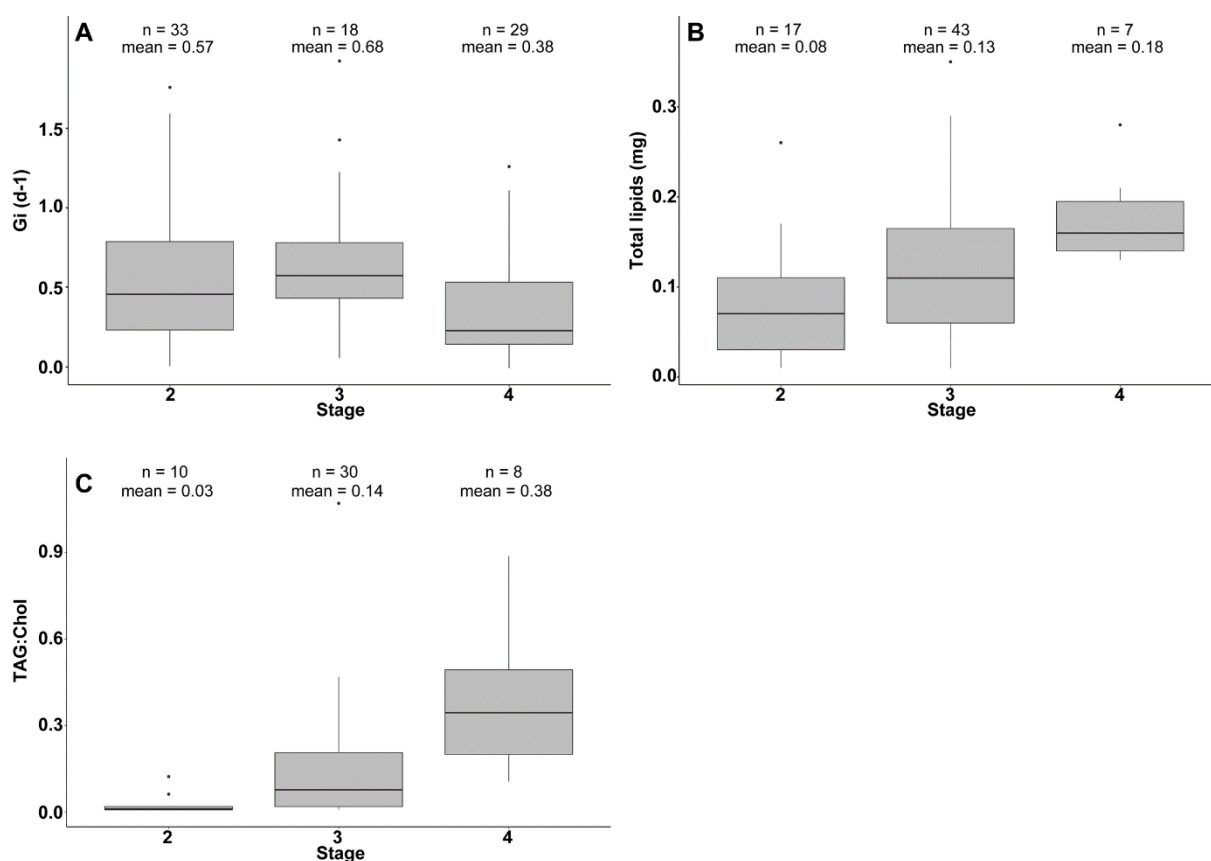


Figure 51 | Biochemical indices according to development stage of plaice larvae. A: instantaneous growth rate (G_i , days⁻¹); B: Total lipids amount (TL; mg); C: TAG:Chol index.

Total lipid content (TL) varied from 5.3 to 57% of dry weight. TL increased with size following the linear regression: $LT = 0 + 0.023 \cdot SL$. However, despite a significant slope, the correlation was weak (LM, $P < 0.01$; $R^2_{adj} = 0.1$). TL varied between larval stages (ANOVA: $F(2,64) = 5.3$; $P < 0.01$) (Figure 51B). A post hoc Tukey test showed that there were no significant differences of TL between stage 2 and 3 ($P = 0.06$) and between stage 3 and 4 ($P = 0.2$). Stage 4 had a significantly larger amount of TL than stage 2 ($P < 0.01$).

Proportions of the main lipid classes were calculated. Plaice larvae were mainly composed by structural lipids with polar lipids (mainly phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine) in relative stable proportions among individuals and representing $91\% (\pm 3.4\%)$ of total lipids, followed by Cholesterol ($6.9 \pm 1.6\%$). TAG (energy reserves) represented only 1.1% and were highly variable between individuals ($sd = 1.6\%$). TAG:Chol ratio ranged from 0 to 1.1 and increased significantly with size following the formula: $\log(\text{TAG:Chol}) = -4.02 + 0.33 \cdot SL$ ($P < 0.01$; $R^2_{adj} = 0.42$). The ratio was also represented and tested between stages (Figure 51C). An ANOVA followed by a post hoc Tukey test showed significant differences when comparing stages ($F(2,45) = 14.33$; $P < 0.01$) with differences of TAG proportion between all stages ($P < 0.05$).

2.3 Histology

2.3.1 Histological condition index

A grade of condition was attributed to each larva, classifying the level of tissue degeneration related to the level of starvation. There was no geographical effect on the histological grades (Pearson's χ^2 test: $df = 2$; $P = 0.97$) nor on the proportions of different developmental stages ($P = 0.91$) between the eastern English Channel

and the Southern Bight of the North Sea. Proportions of grades for the different stages were calculated and represented in Figure 52

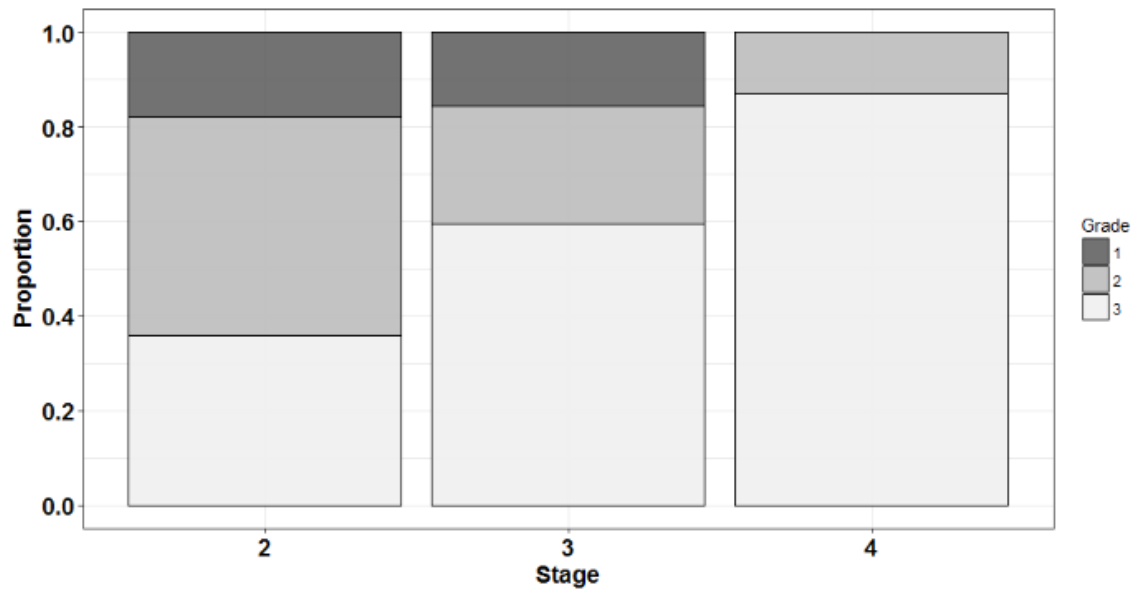


Figure 52 | Distribution of histological grades for each stage. Grade 1: emaciated; grade 2: intermediate; grade 3: healthy.

Overall, grade 1 (emaciated) represented 12.8% of the larvae analysed, grade 2 (intermediate) 30.8% and grade 3 (healthy) 56.4%. Stage 2 larvae comprised 17.9% of grade 1, 46.1% of grade 2 and 36% of grade 3 individuals. For stage 3, grade 1 was found in 15.6% of larvae analysed against 25% of grade 2 and 59.4% of grade 3. Concerning stage 4, no grade 1 was found and 13% of them were grade 2. Grade 3 represented 87% of stage 4 individuals analysed.

2.3.2 Hepatocytes vacuoles

Size and number of vacuoles in the liver have been scored. Results by stage are represented in Figure 53.

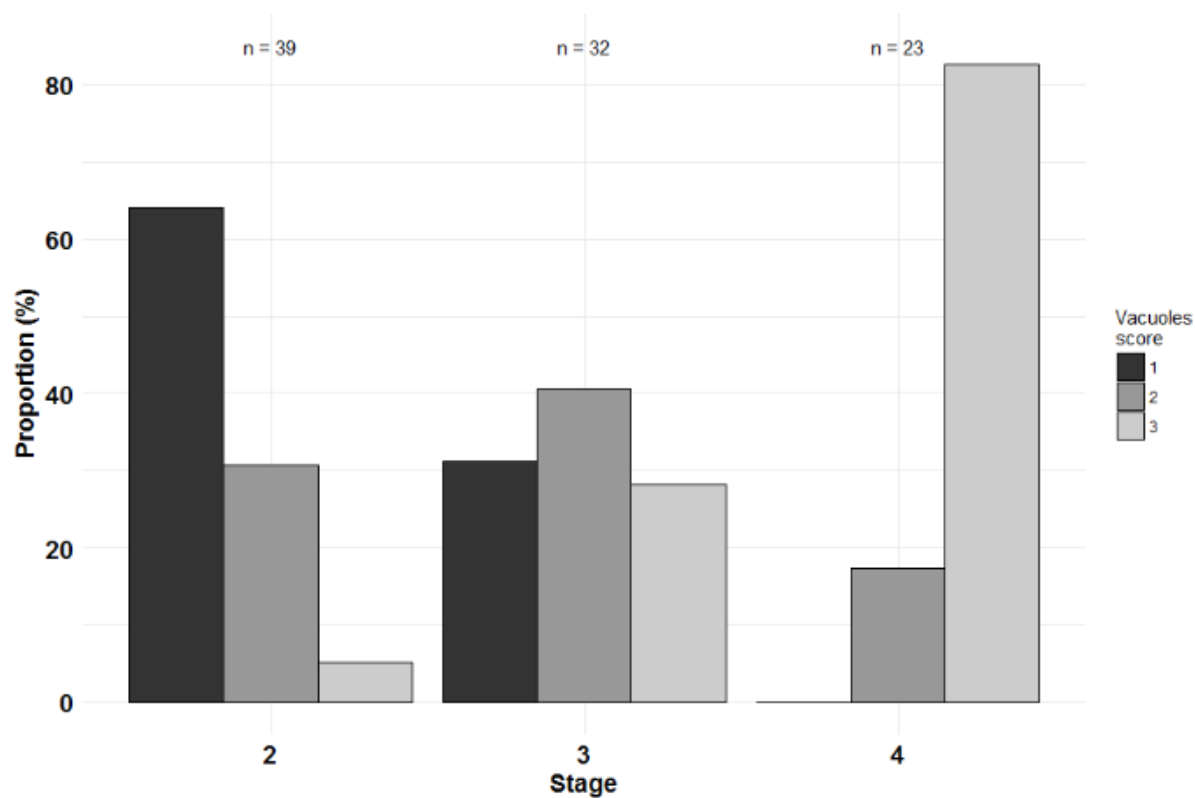


Figure 53 | Proportion of liver vacuoles scores according to stages. 1: Absence of vacuoles; 2: rare and dispersed vacuoles; 3: numerous and wide vacuoles.

Stage 2 larvae had a proportion reaching 64.1% of individuals with liver vacuoles of score 1 (absence of vacuoles; Figure 54A), 30.8% of score 2 (rare and dispersed vacuoles; Figure 54B) and 5.1% of score 3 (numerous and wide vacuoles; Figure 54C). Stage 3 individuals had 31.2% of score 1, 40.6% of score 2 and 28.2% of score 3. All stage 4 larvae presented vacuoles in the liver (scores 2-3), with 82.6% of individuals with numerous and wide vacuoles (score 3).

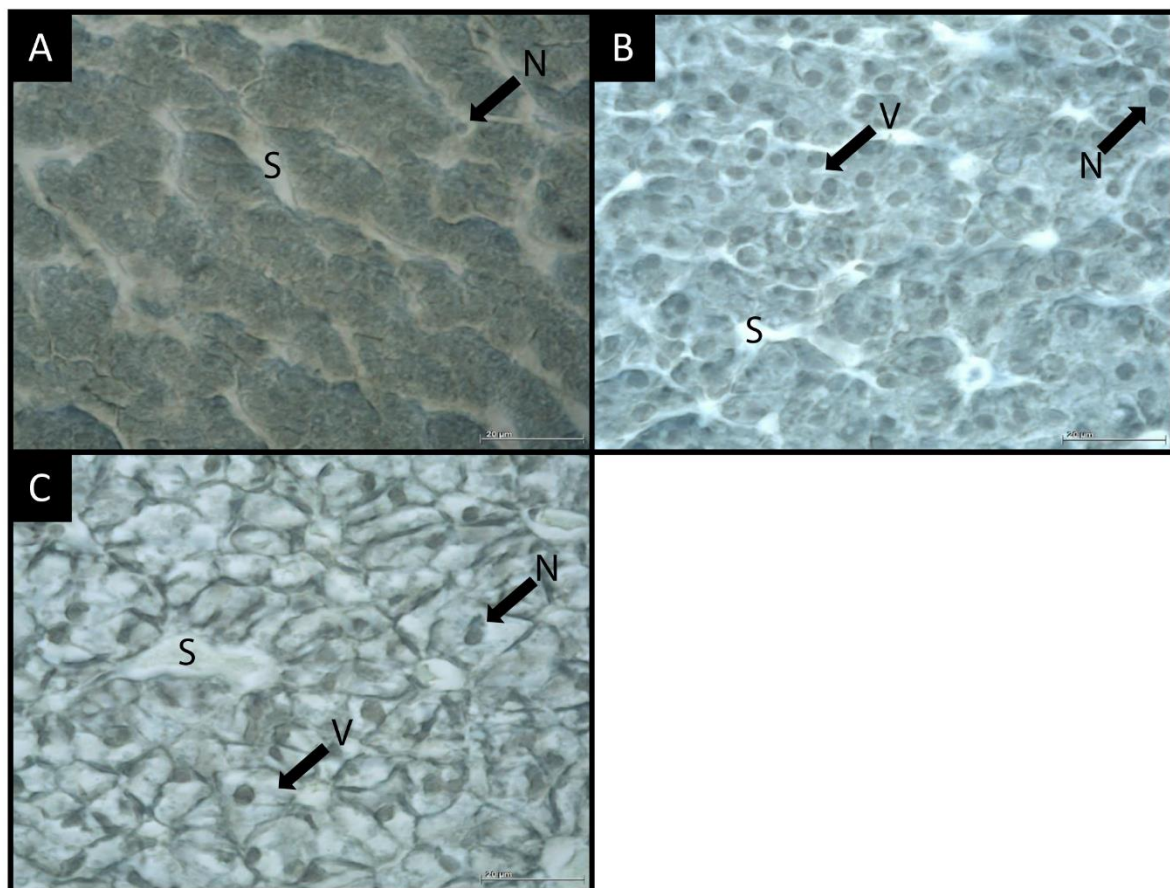


Figure 54 | Sagittal histological section of larvae liver plaice. Magnification X1000; oil immersion. A: Score 1. Absence of vacuoles. Hepatocytes are small with small and mostly indistinct nucleus. B: Score 2. Vacuoles are rare and scattered. Hepatocytes are medium and distinct. Nucleus is central with extended nucleoli. C: Score 3. Vacuoles are numerous and wide. Hepatocytes are large and distinct. Nucleus is lateral with reduced and distinct nucleoli. S: Sinusoids; V: Vacuoles; N: Nucleus.

2.4 Comparison of indices

The different indices were coupled to highlight physiological characteristics of each development stage. Three classes based on quantiles were defined for Gi and TAG:Chol values to compare those indices based on equifrequent classes (Table 25).

Table 25 | Limits of classes based on quantiles for TAG:Chol and growth rate indices.

	Low	Medium	High
TAG:Chol	[0_0.02)	[0.02_0.15)	[0.15_1.07]
Gi (Days ⁻¹)	[0_0.24)	[0.24_0.63)	[0.63_2.85]

Number of individuals by stage in each Gi quantiles, TAG:Chol classes, histological grades and liver vacuoles scores were computed and a CA was performed (Figure 55).

Both axes explained 100% of the variance. Stages 2 and 4 had a better quality of representation on axis 1 ($\cos^2 = 0.79$ and 0.94 respectively) whereas stage 3 was associated to axis 2 ($\cos^2 = 0.99$). There was a trend in the repartition of stages along the first axis with stage 2 on the right, stage 3 in the middle and stage 4 on the left of the plane. On the first axis, the majority of medium and low quantiles and histological scores were on the positive part close to stage 2. Only “Low.Gi” was on the negative part, close to stage 4. Conversely, all high quantiles and histological scores were on the negative part of the first axis.

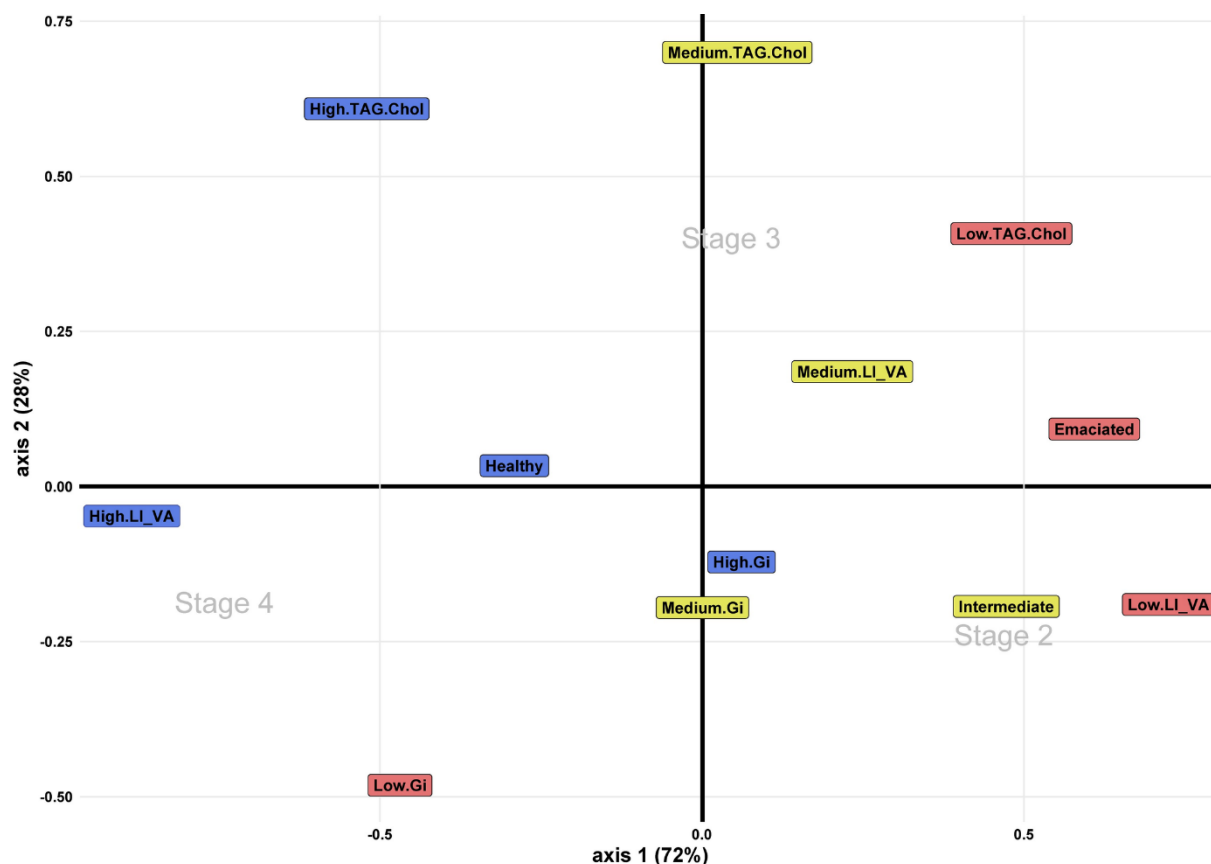


Figure 55 | CA of the proportion of individuals of each stage on the three quantiles of Gi and TAG:Chol indices and on the three histological grades of condition and liver vacuoles scores. Colour code depicts quantiles and histological indices levels.

3 Discussion

As the other flatfish, plaice experiences drastic changes during its larval development in terms of morphology (Ahlstrom et al., 1984), behaviour (Silva et al., 2015) and living environment (Petitgas et al., 2013) either at the start of the exogenous feeding (stage 2) or when larvae enter stage 4 (with fully developed fins, increased body height and the beginning of eye migration). In this study, histological and biochemical indices were used and compared in order to determine the physiological status and development strategy of wild caught plaice larvae during ontogeny.

Plaice larvae collected in this study were from stage 2 to 4. No larva of stages 1 and 5 were caught. Our sampling was not able to collect stage 1 and stage 5 larvae due to the seasonality (Fox et al., 2005) and behaviour of older stages which are settling to the bottom (Silva et al., 2015), under sampled with a pelagic gear (Pearcy, 1962).

Size ranges by development stage were obtained from thawed larvae. From our observations, stage 4 larvae were observed from a standard length of 9 mm. This size corresponds to the start of the metamorphosis and corroborates with Ryland (1966). However, the age and size of the beginning of metamorphosis can vary among individuals because of environmental influences including response to nutritional condition (Fernández-Díaz et al., 2001) and temperature (Benoît and Pepin, 1999; Benoît et al., 2000; Chambers and Leggett, 1989). Using otolith microstructure, Comerford et al. (2013) showed that hatching dates, larval duration and time of settlement were different among the three regions they compared (southern North Sea, Irish Sea and west of Ireland) because of their differences in temperature. Thus, temperature influences growth rate, usually positively as it was showed for plaice larvae (Comerford et al., 2013) and ultimately size at metamorphosis. In this study, size distributions allow an accurate distinction of the different stages of development with low overlap. This homogeneity of size at stage could come from the choice of sampling stations performed which was made in order to limit spatial influence of environmental parameters such as temperature.

Ratio of nucleic acids was investigated to highlight differences of growth rate according to development stages. G_i of stage 2 larvae appeared highly variable between individuals and displayed a wide range of values. This resulted in an absence of statistical difference with other stages. Growth rate is positively correlated

to nutritional status (Clemmesen, 1994). Hence, the high variability of G_i for stage 2 larvae could be due to the mix of fast-growing healthy individuals and slow-growing starved larvae since stage 2 larvae experience their first exogenous feeding and are highly sensitive to starvation (Critical Period Hypothesis: Hjort, 1914). Stage 3 individuals showed the highest mean G_i whereas larvae of stage 4 displayed the lowest growth rate and significantly different from the one of stage 3 larvae. This pattern of growth along ontogeny is in accordance with Christensen and Korsgaard (1999) which highlighted a constant growth rate during pre-metamorphosis stages (stage 1 to 3 included) mainly due to hyperplasia (cell proliferation). At the beginning of metamorphosis (stage 4), they found a decrease in growth due to a switch toward hypertrophy (cell enlargement). Such changes in growth continue throughout the transition to the post-metamorphosis stage (stage 5), and have been found to extend until newly settled fish (Amara and Paul, 2003). Even if stage 4 larvae had the lowest growth rate, mean G_i did not reached zero suggesting that there was no cessation of energy allocation towards growth. Hovenkamp (1992) showed that during metamorphosis fast-growing individuals of North Sea larval plaice depicted higher survival rate. The growth-dependent mortality (Houde, 1997) is a well-known phenomenon which had been highlighted both in field and laboratory studies. According to this hypothesis, even reduced, growth of plaice larvae in metamorphose allows to reduce risks of predation with a shorter duration of the vulnerable larval period (Bailey and Houde, 1989; Pepin, 1991, 2016).

Overall, an increase in TL content and TAG proportion was showed over ontogeny. The increase in TL was expected due to the augmentation of the dominant membrane lipids class (98% of the total lipid content) related to somatic growth. Reserves lipids such as TAG, that are directly influenced by nutrition also increased

during larval development, indicating an increase of the energy storage for older larvae. Larvae of stage 2 were characterized by extremely low proportions of TAG, with numerous individuals with no reserves, or in quantities below the detection range of Iatroscan. Under optimal feeding condition in *ex-situ* experiment, plaice larvae start to accumulate neutral lipids by late stage 2 (Ehrlich, 1974b). Our results suggest that for wild individuals, that might encounter less favourable feeding conditions, reserve lipid deposition starts effectively by stage 3. The highest proportion of TAG was found for stage 4 larvae, indicating overall no poor condition for this stage since energy storage occurs in good health (Fraser et al., 1988). Brewster (1987) hypothesized on the fact that flatfishes store energy in the liver in foresight of metamorphosis which could begin only after a sufficient amount of reserves has been created. Even if our study does not allow confirming this hypothesis, the absence of stage 4 larvae without reserves is in line with Brewster hypothesis. Accumulating reserves during pre-metamorphosis stages is in all case vital for plaice larvae since they cease to feed during metamorphosis (Geffen et al., 2007; Riley, 1966).

Histological condition and amount of liver vacuoles increased during development from stage 2 to stage 4. The liver plays a role as an energy reservoir in fish larvae with important functions in lipids and glycogen storage (Rønnestad et al., 2013; Zambonino-Infante et al., 2008). Storage increase vacuolation of cytoplasm hepatocytes leading to the move of the nucleus to the periphery of the cell (Deplano et al., 1991). Liver reserves are sensitive to nutritional status and are the first energy sources mobilised at the onset of starvation (Segner et al., 1994). For these reasons, scoring level of vacuolation is one of the most accurate histological criteria to detect beginning of starvation and evaluate physiological and nutritional status of fish larvae. Stage 2 larvae had the higher proportion of individuals in degraded and

intermediate condition. Most of them had no vacuoles in the liver. Stage 3 larvae had a similar proportion of larvae in bad condition but had a higher proportion of healthy individuals with a higher proportion of individuals having large liver vacuoles. No stage 4 larvae were found in poor condition. Moreover, most of these larvae had numerous and wide liver vacuoles. Absence of stage 4 individuals without liver vacuoles corroborates with the hypothesis advanced by Brewster (1987) on the necessity of stage 3 individuals to build up energy reserves before entering metamorphosis. Stage 4 larvae were in better condition than stage 3 ones, but in much lower abundances in the sampled stations. So, the peak of mortality due to starvation experienced by first feeding larvae (beginning of stage 2) could extend until beginning of metamorphosis.

Taken together, lipid classes proportion, histological observations and growth index allowed characterising the physiological condition of larval plaice throughout ontogeny. While histological indices revealed condition, linked to direct effects of starvation, biochemical indices such as lipid classes or nucleic acids ratios informed on the amount of energy reserves and growth rate respectively. When fish begin larval exogenous feeding and until settlement, they have to deal with the trade-off between energy allocation towards somatic growth, mainly to reduce predation pressure, or energy storage, increasing their starvation tolerance. Plaice larvae at pre-metamorphosis, especially stage 2 individuals, appeared to favour growth, displaying very low amount of TAG reserves and a high growth rate, which was however highly variable between individuals. This heterogeneity in growth rate could come from the different condition levels experienced by stage 2 larvae. Indeed, stage 2 larvae had the highest proportion of individuals in bad condition as depicted by their highest proportion of degraded and intermediate condition grades. This observation

could illustrate the critical period hypothesis stated by Hjort (1914) where first feeding larvae without energy reserves are more impacted by starvation and experience peak of mortality. Later, stage 3 larvae which have passed through the critical period will start to accumulate energy, partly in the form of liver vacuoles. It is during this development stage that the growth rate was the highest with fewer variations due to a lower proportion of unhealthy individuals. Larvae with enough reserves will then start their metamorphosis, reducing their growth rate compared to pre-metamorphosis stages. The high TAG proportion for stage 4 larvae allows to rule out the possibility of a decline in growth rate observed at the same period due to a poorer condition since energy storage occurs in good health (Fraser et al., 1988). It was confirmed by histological approaches which showed majority of healthy individuals, with numerous and wide liver vacuoles. A switch in the energy allocation strategy was thereby highlighted when larvae enter in metamorphosis (at a length of 9 mm in our case). Since the quantity of lipid reserves is particularly important for plaice larvae to withstand starvation during metamorphosis, this shift could be considered as a second critical period after the one of exogenous feeding for larval survival and recruitment success.

Discussion générale



En écologie halieutique, la prise de conscience de l'importance des processus impliqués dans le succès de survie des larves de poissons remonte au début du 20^{ème} siècle à travers les travaux pionniers de Johan Hjort (1914). Ses observations sur les variations des classes d'âge ont posé les fondements théoriques de la structure des populations. Dès lors, de nombreuses hypothèses ont été formulées dans le but de conceptualiser les différentes sources de mortalité subies par l'ichtyoplancton pour expliquer la variabilité du recrutement des poissons. C'est dans cette problématique que cette thèse s'est inscrite avec pour but d'apporter 100 ans après le concept de « période critique », une pierre à son édifice.

Nous comparerons avec les sources bibliographiques les résultats obtenus dans cette thèse sur les différents indices de condition utilisés. Le concept de période critique sera ensuite discuté afin de préciser l'existence d'une ou de plusieurs phases de forte mortalité, et leur importance en tant que périodes déterminantes pour le recrutement des espèces. Les variations saisonnières et pluri annuelles des assemblages larvaires en MO et dans la BSMN seront également revues. Enfin, des perspectives seront proposées afin d'améliorer la compréhension des conditions nutritionnelles rencontrées par l'écophase larvaire, et leur impact sur le recrutement.

1 L'étude de la condition larvaire *in situ* : une approche individu centrée

La condition larvaire au sens large se définit comme l'état de santé dans lequel se trouvent les larves de poissons. De manière plus précise, on peut différencier la condition physique comme l'état dans lequel sont les organes, tissus ou cellules, de la condition physiologique des larves traduisant plus leur métabolisme (Ferron et Legett, 1994). Les chances de survie larvaire sont en lien direct avec leur

condition physique et physiologique (Anderson, 1988). Ce sont ces mêmes chances de survie à l'échelle individuelle qui vont, au final, influencer le taux de recrutement dans la population adulte (Houde, 1987).

Dans cette étude, trois principaux indices de condition ont été utilisés, un indice lipidique basé sur le rapport TAG:Chol, un indice nucléaire, et un indice histologique. Ces trois indices ont renseigné sur différents aspects des conditions physiques et physiologiques rencontrées par les larves en fonction des conditions environnementales et de l'ontogénie. Dans cette première partie il sera donc discuté de l'apport de ces différentes techniques.

1.1 L'approche histologique

L'approche histologique est une approche intégratrice des conditions qui ont été subies par une larve. Elle traduit l'état nutritionnel, de l'échelle des cellules à celle des organes et jusqu'à l'individu (O'connel, 1976).

En utilisant la méthodologie développée expérimentalement par Boulhic (1991) sur la sole, il a été montré que le stade de développement le plus touché par le jeûne était le stade 2 correspondant au début de l'alimentation exogène, ce résultat est en conformité avec les hypothèses sur la période critique. Les individus de stade 2 qui étaient en bonne condition ont été observés dans des zones plus restreintes en 2017 comparé à 1995. Ceci est en lien avec une température plus élevée et une plus faible production phytoplanctonique sur l'ensemble de la zone d'étude (chapitre 3.1). Identifier les conditions environnementales non favorables à une bonne condition physique s'est révélé être plus complexe étant donné le faible nombre d'individus capturés en condition de jeûne sévère selon la méthode de Boulhic (1991).

Parmi les limites de cette approche, il est souvent cité dans la littérature l'aspect subjectif de cette méthode dans l'appréciation des grades de jeûne, pouvant varier suivant les observateurs. Suite aux travaux de différents auteurs pour limiter ces biais (e.g Koubbi et al., 2007), nous avons amélioré la lecture des lames par l'établissement d'une liste de critères basée sur la qualification en deux ou trois modalités de l'état des cellules, des tissus ou des réserves (chapitre 3.2). Cette liste a en premier été conçue pour aider à déterminer le grade de condition des larves suivant l'échelle définie expérimentalement par Bouhlic (1991). Au lieu de six grades comme définis expérimentalement par Bouhlic (1991), nous avons redéfini trois grades pour les larves issues du milieu naturel.

Ces nouveaux grades répondent au fait que les larves dans le milieu naturel vont être soumises à d'autres pressions biotiques que le jeûne tel que la prédation (figure 56). Plus l'état de jeûne sera avancé plus les risques biotiques (e.g prédation, maladie) seront importants (Rosenthal et Alderdice, 1976; Purcell et al., 1987; Leggett et DeBlois, 1994; Hare et Cowen, 1997). Ceci conduit à une différence, entre les deux types d'études, de l'incidence maximale observable du jeûne à l'échelle individuelle. Il en résulte très peu d'observation *in situ* des plus faibles grades définis expérimentalement, pouvant amener à une mauvaise interprétation des chances de survie des larves de poissons.

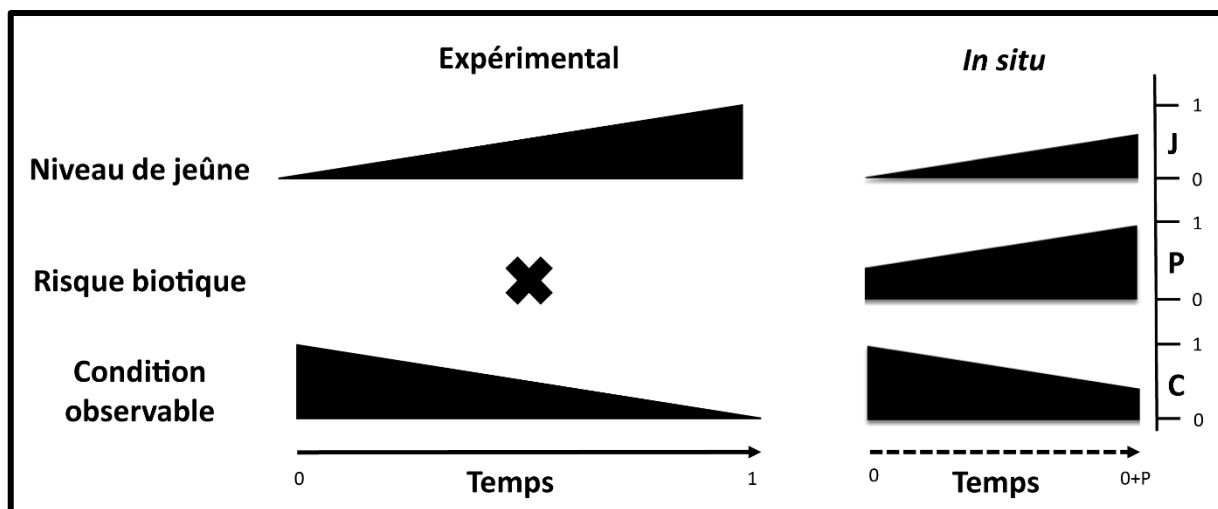


Figure 56 | Schéma conceptuel de l'effet des risques biotiques sur les conditions histologiques observables en expérimental et dans le milieu naturel au cours du temps. J : jeûne ; P : risque biotique ; C : condition. 1 = niveau maximal ; 0 = niveau minimal.

Une autre différence fondamentale est liée aux différences de processus de dégradation observés en milieu contrôlé par rapport au milieu naturel. *In situ*, les larves subissent des contraintes alimentaires stochastiques alternant phases de bonne nutrition et de jeûne. Ce n'est pas le cas en milieu expérimental où le jeûne est continu entraînant un processus de dégradation le long d'une échelle bien établie. De ce fait, certains critères ayant été définis comme indicateur de la condition peuvent relever d'autres processus lorsque l'alimentation des individus n'est pas contrôlée de manière qualitative et quantitative. En effet, des critères comme l'absence de zymogène dans le pancréas, ou la présence de vacuoles dans l'intestin sont apparus comme étant dépendants d'une prise récente de nourriture et du réel statut nutritionnel global (chapitre 3.2). Ainsi, ces critères peuvent traduire une mauvaise condition mais sont également sous influence du rythme des périodes d'alimentation. Pour la sole par exemple, un critère important comme le niveau de

réserve dans le foie relève également des prises alimentaires récentes (O'Connell, 1981; Segner et Moller, 1984). Cependant, un foie comprenant de larges réserves ne peut se retrouver que chez des individus en bonne santé et on peut ainsi considérer que ce critère est pertinent dans l'évaluation de la condition à l'échelle individuelle.

Dans cette étude, il a ainsi été proposé une nouvelle échelle de grades pour les larves capturées *in situ* car ce qui apparaît essentiel est de bien différencier (1) les larves en point de non-retour qui ne pourront pas survivre, (2) les larves en condition de jeûne variable au gré de la rencontre avec leurs proies et (3) les larves en excellente condition nutritionnelle. Les résultats obtenus grâce à ce nouvel indice seront discutés dans la deuxième partie de ce chapitre.chapitre.

1.2 L'indice lipidique

La quantité de lipides de réserves chez les larves de poissons explique la condition physiologique. Ces mesures sont liées au métabolisme d'utilisation et stockage de l'énergie. Au cours du jeûne, les réserves énergétiques vont être mobilisées en premier et ce de manière linéaire (Zambonino-Infante et al., 2008).

La mesure de l'indice TAG/Chol appliquée sur la plie à l'hiver 2017 a permis de mettre en évidence la quantité de réserves dont les larves disposent en fonction du stade de développement. Il y a une augmentation de la quantité de réserves indépendamment de la taille au cours de l'ontogénie (chapitre 5). Les larves de stade 2 ont montré avoir une très faible quantité de réserves, comparé aux larves de stade 3 et surtout aux larves de stade 4 entrant en métamorphose. Les larves de plie de stade 2 possèdent donc le plus faible potentiel de résistance au jeûne, comme indiqué par les résultats sur la condition physique estimée par l'approche histologique. Cependant, une faible quantité de réserves ne traduit pas

nécessairement une mauvaise condition (Giraldo et al., 2012). Il se peut qu'une stratégie favorisant plus la croissance que le stockage conduise à une faible quantité de lipides sans pour autant avoir une forte proportion d'individus en mauvaise condition physique. *In situ*, les résultats d'indices traduisant un niveau des réserves peuvent être interprétés comme un indicateur de la capacité de tolérance au jeûne sans altération de la cohésion tissulaire.

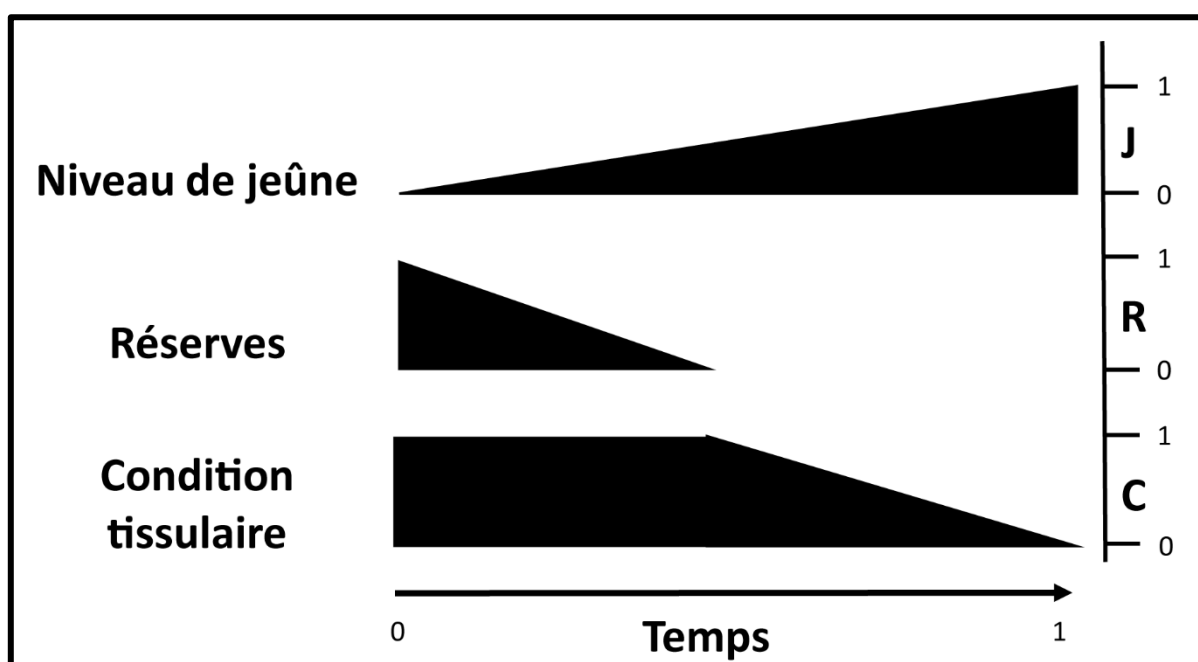


Figure 57 | Schéma conceptuel de l'asynchronie entre la décroissance de la condition physiologique du niveau de réserve et celle de la condition physique tissulaire. J : jeûne ; R : réserve ; C : condition. 1 = niveau maximal ; 0 = niveau minimal.

La figure 57 rend compte de manière simplifiée de l'asynchronie des réponses au jeûne entre métabolisme et condition tissulaire. Les réserves étant la première source d'énergie mobilisée au début du jeûne (Segner et al., 1994), il en résulte en situation de jeûne continu une réduction de l'énergie disponible (Crespo et al., 2001; Green et McCornick, 1999). Ainsi, une fois les réserves épuisées, l'organisation histologique des différentes régions du tube digestif et des organes accessoires se détériore progressivement (Zambonino-Infante, 2008). La diminution de ces réserves

est observable en histologie par l'analyse des vacuoles hépatiques. Hoehne-Reitan et Kjorsvik, (2004) ont décrit les réserves du foie comme un bon biomarqueur du statut nutritionnel qui réagissent de façon significative et avec rapidité aux changements nutritionnels. Ceci fait des indices de réserves, des indices à haute sensibilité étant donné que l'utilisation des réserves lipidiques représente la première réponse physiologique des larves de poissons à une absence d'alimentation.

1.3 L'indice nucléique

L'indice d'acides nucléiques (ARN/ADN ou Gi) est l'indicateur biochimique le plus largement utilisé (e.g Bailey et al., 1995; Ciotti et al., 2010; Clemmesen, 1994; Do Souto et al., 2019). Outre les variations de croissance observées selon le niveau de jeûne, d'autres facteurs reliés à l'ontogénie comme l'âge, le stade de développement et la taille font varier la croissance indépendamment du statut nutritionnel (Bulow, 1970 ; Rooker et Holt, 1996).

Dans notre étude, cet indice a montré un ralentissement de la croissance chez la plie lors de son entrée en métamorphose (chapitre 5). Il a également été montré un fort taux de croissance chez les larves de stade 2 avec cependant une grande variabilité due à un mélange de larves en bonne condition physique, à croissance rapide, et de larves en mauvaise condition ayant ainsi un faible taux de croissance. Cette forte variabilité chez les plus jeunes individus peut également être observée au sein d'un seul stade développement. Dans le chapitre 4, le taux de croissance des petits merlans de stade 2 est apparu plus variable que celui des plus grandes larves de même stade. Dans ce chapitre, il a également été montré pour les stades 2 une baisse globale du taux de croissance des larves de sprat, de sole et de merlan avec la taille.

Nous pouvons conclure que cet indice a des limitations dans le cadre d'études *in situ* de la condition nutritionnelle. En effet, utilisé seul, il nous aurait conduit à considérer le stade 4 de la plie comme le stade de développement le plus touché par le jeûne. Or, le couplage de cet indice avec les observations histologiques et les quantités de lipides de réserves nous a permis de montrer que c'est au stade 4 que la plie possède la plus forte proportion de larves en très bonne condition physique et ayant la plus grande quantité de réserves. De ce fait, nous pouvons supposer que la diminution du taux de croissance G_i serait la conséquence d'un changement de stratégie d'allocation de l'énergie. Pour cette raison, il est préférable d'interpréter l'indice nucléique en termes de croissance plutôt que d'estimateur de la condition trophique car celui-ci est fortement dépendant du stade de développement voire de la taille (chapitre 4). En effet, il est possible d'observer des individus de petite taille ayant une condition moyenne ou mauvaise mais dont le taux de croissance est plus élevé que celui de larves plus âgées et étant en meilleure condition (Figure 58).

La figure 57 rend compte de manière simplifiée de l'asynchronie des réponses au jeûne entre métabolisme et condition tissulaire. Les réserves étant la première source d'énergie mobilisée au début du jeûne (Segner et al., 1994), il en résulte en situation de jeûne continu une réduction de l'énergie disponible (Crespo et al., 2001; Green et McCornick, 1999). Ainsi, une fois les réserves épuisées, l'organisation histologique des différentes régions du tube digestif et des organes accessoires se détériore progressivement (Zambonino-Infante, 2008). La diminution de ces réserves est observable en histologie par l'analyse des vacuoles hépatiques. Hoehne-Reitan et Kjorsvik, (2004) ont décrit les réserves du foie comme un bon biomarqueur du statut nutritionnel qui réagissent de façon significative et avec rapidité aux changements nutritionnels. Ceci fait des indices de réserves, des indices à haute

sensibilité étant donné que l'utilisation des réserves lipidiques représente la première réponse physiologique des larves de poissons à une absence d'alimentation.

1.4 L'indice nucléique

L'indice d'acides nucléiques (ARN/ADN ou Gi) est l'indicateur biochimique le plus largement utilisé (e.g Bailey et al., 1995; Ciotti et al., 2010; Clemmesen, 1994; Do Souto et al., 2019). Outre les variations de croissance observées selon le niveau de jeûne, d'autres facteurs reliés à l'ontogénie comme l'âge, le stade de développement et la taille font varier la croissance indépendamment du statut nutritionnel (Bulow, 1970 ; Rooker et Holt, 1996).

Dans notre étude, cet indice a montré un ralentissement de la croissance chez la plie lors de son entrée en métamorphose (chapitre 5). Il a également été montré un fort taux de croissance chez les larves de stade 2 avec cependant une grande variabilité due à un mélange de larves en bonne condition physique, à croissance rapide, et de larves en mauvaise condition ayant ainsi un faible taux de croissance. Cette forte variabilité chez les plus jeunes individus peut également être observée au sein d'un seul stade développement. Dans le chapitre 4, le taux de croissance des petits merlans de stade 2 est apparu plus variable que celui des plus grandes larves de même stade. Dans ce chapitre, il a également été montré pour les stades 2 une baisse globale du taux de croissance des larves de sprat, de sole et de merlan avec la taille.

Nous pouvons conclure que cet indice a des limitations dans le cadre d'études *in situ* de la condition nutritionnelle. En effet, utilisé seul, il nous aurait conduit à considérer le stade 4 de la plie comme le stade de développement le plus touché par le jeûne. Or, le couplage de cet indice avec les observations histologiques et les quantités de

lipides de réserves nous a permis de montrer que c'est au stade 4 que la plie possède la plus forte proportion de larves en très bonne condition physique et ayant la plus grande quantité de réserves. De ce fait, nous pouvons supposer que la diminution du taux de croissance G_i serait la conséquence d'un changement de stratégie d'allocation de l'énergie. Pour cette raison, il est préférable d'interpréter l'indice nucléique en termes de croissance plutôt que d'estimateur de la condition trophique car celui-ci est fortement dépendant du stade de développement voire de la taille (chapitre 4). En effet, il est possible d'observer des individus de petite taille ayant une condition moyenne ou mauvaise mais dont le taux de croissance est plus élevé que celui de larves plus âgées et étant en meilleure condition (Figure 58).

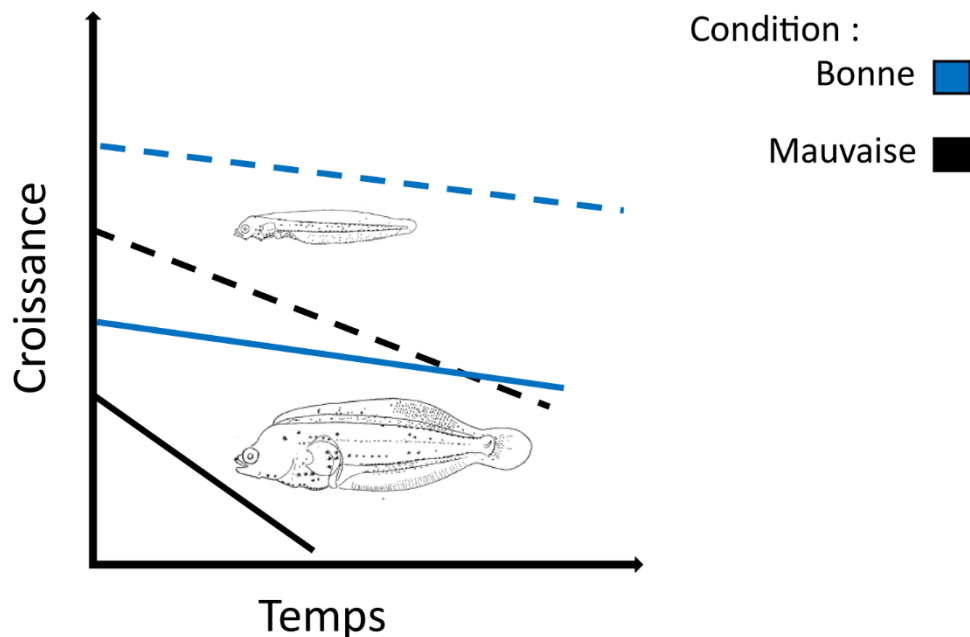


Figure 58 | Schéma conceptuel traduisant l'effet simultané de la taille et de la condition sur le taux de croissance réalisé par les larves de poissons au cours du temps. Trait plein = larve âgée ; pointillés = larve jeune.

L'indice résiduel (Chicaro et al., 1998 ; Chicaro et Chicaro, 2008) permet de corriger les variations ontogéniques du taux de croissance. Dans le chapitre 4, cet

indice a permis de comparer la croissance des larves de sprat, merlan et sole entre zones et/ou périodes sans prendre en compte les variations spatiales et/ou saisonnières de la taille des individus de stade 2.

1.5 Comparaison des trois approches

Les indices utilisés ont montré qu'ils étaient complémentaires, tous répondant à des questions différentes. Utilisés ensemble, ils ont permis de préciser les variations de condition nutritionnelle subies par les larves au cours de leur développement, de leur croissance et de la mise en réserves et ainsi d'estimer les conditions rencontrées par les cohortes larvaires (chapitre 5). Il a aussi été montré que la croissance (condition physiologique) et la condition nutritionnelle ne varient pas toujours ensemble et pouvaient même être opposées (chapitre 4).

2 Le concept de période critique : un seul stade de développement contrôle t'il le recrutement d'une espèce ?

Le concept de période critique tel qu'il a été énoncé par Hjort (1914) propose que la plus forte mortalité pendant le cycle de vie des poissons ait lieu durant une période relativement courte, plus précisément, au moment du début de la nutrition exogène. Cette forte mortalité à l'entrée du stade 2 est dû à 1) une absence de ressources alimentaires dans le milieu à ce moment précis et/ou 2) aux courants non favorables au bon développement des larves (May, 1974). Cependant, nous avons montré qu'il pouvait exister d'autres phases critiques larvaires. Il sera ainsi discuté ici des différentes phases critiques régulant potentiellement le recrutement des poissons.

2.1 Le stade préflexion

Dans cette thèse, nous avons montré que les stades 2 (ou préflexion) de la sole (chapitre 3.1) et de la plie (chapitre 5) avaient les plus fortes proportions d'individus en mauvaise condition physique. Le jeûne serait responsable de ces mauvaises conditions (Houde, 1987). C'est à ce stade, qu'on observe une grande variabilité du taux de croissance, surtout pour le merlan (chapitre 4), et une quasi absence de réserves lipidiques pour la plie. Même si le stade 2 est une période critique pour toutes les espèces, cela varie de manière interspécifique (chapitre 4). Pour les stades 2 de la sole, c'est 20% des individus capturés en 2017 qui étaient en mauvaise condition physique, contre 18% pour la plie, 13% pour le sprat et 5% pour le merlan. Ce chiffre est relativement élevé comparativement aux études que l'on peut trouver pour d'autres espèces comme le hareng avec 8% de larves (O'Connell, 1980). Cependant, cette étude par approche histologique sur le hareng ne s'est pas focalisée uniquement sur le stade de préflexion.

L'impact du jeûne varie également en fonction de l'espace ou du temps. Au cours du printemps 2017, c'est en mars que la proportion de larves de sole de stade 2 en mauvaise condition était la plus forte. Cela s'est suivi d'une amélioration de la condition au cours de la saison (chapitre 3.1 et 4). Ce même schéma avec une amélioration au cours du printemps a été observé pour le sprat alors que le merlan avait une plus forte proportion d'individus en mauvaise condition en mai par rapport à avril. Durant le stade 2, les larves de sole en bonne santé ont été trouvées dans les zones côtières en milieu de saison, là où les conditions de production primaire et de température étaient les plus favorables (chapitre 3.1). La croissance était, elle, plus élevée loin des côtes et en début de saison, là où les larves avaient la plus forte proportion d'individus en mauvaise condition (chapitre 4) et où elles étaient les plus

petites (chapitre 3.1). Pour le merlan, une absence de colinéarité entre croissance et condition physique a également été montrée avec la zone estuarienne où on observait de fortes concentrations en chlorophylle et de faibles salinités (chapitre 2). C'est là qu'il a été trouvé des individus à forte croissance mais également la plus forte proportion de larves en mauvaise condition (chapitre 4). Le sprat a montré une amélioration de la croissance et de la condition en milieu de saison comparé à mars, avec peu de différences spatiales.

Parmi les facteurs ayant un impact significatif sur la condition nutritionnelle des stades 2, la disponibilité en proies est un paramètre primordial en accord avec les théories trophodynamiques du recrutement (Bakun, 1998; Cushing, 1990; Hjort, 1914). Cependant, l'abondance en zooplancton, comme proxy de l'abondance de proies, n'est pas apparue comme liée à la condition des larves de poissons (chapitres 3.1 et 4). Cette absence de relation est fréquente dans les études de condition (e.g Canino et al., 1991; McGurk et al., 1993) et pourrait être due à d'autres facteurs qui influent sur la capture des proies par les larves. China et Holzman (2014) ont étudié le niveau de jeûne en lien avec l'hydrodynamisme chez les larves lors du début de la nutrition exogène. Ces auteurs ont montré que les contraintes hydrodynamiques limitent les capacités de prédation des larves au début de la nutrition exogène. Ces expériences ont révélé que la taille des larves de stade 2 est le principal facteur déterminant le taux d'alimentation et cela indépendamment des autres aspects ontogénétiques (e.g développement des nageoires ou de la bouche). Ainsi, cela pourrait expliquer pourquoi les plus petites larves de stade 2 de merlan et de sole, ont les plus forts taux d'individus en mauvaise condition physique, mais surtout pourquoi elles possèdent un fort taux de croissance ; elles tentent de grandir vite afin d'augmenter leur succès de prédation.

Les turbulences à micro-échelle (MacKenzie et Leggett, 1991), ainsi que la fragmentation des densités de proies à petite échelle temporelle et spatiale (MacKenzie et Kiørboe, 1995) seraient donc des facteurs possibles expliquant la difficulté de relier la condition nutritionnelle larvaire et la disponibilité en nourriture à l'échelle d'une station d'échantillonnage. En effet, le statut nutritionnel des larves a montré une variabilité à une échelle locale (chapitre 3.1), celle des stations d'échantillonnage. Il existe donc une variabilité de l'état des larves tant au sein d'un même site qu'entre stations proches dans le temps et/ou dans l'espace. Ceci implique que dans certains cas une très forte proportion d'individus en mauvaise condition ou à faible croissance peut être observée à un point donné, et la quasi-totalité des individus en condition optimale à quelques milles de là. Cette variabilité à petite échelle a été mise en évidence par O'Connell (1981) sur les larves d'anchois étudiée par approche histologique. En effet, l'auteur avait conclu qu'il pouvait exister autant de variabilité du statut nutritionnel dans un rayon de quelques milles marins que dans l'ensemble de sa zone d'étude (Golfe de Los Angeles, Etats Unis). Cette forte variabilité à fine échelle est également vraie pour la croissance comme cela a été observé par Methot et Kramer (1979) sur la même espèce. Grâce à l'otolithométrie, les auteurs ont trouvé une variabilité du taux de croissance à l'échelle du mille nautique aussi élevée qu'à l'échelle de l'aire étudiée.

La théorie du match/mismatch de Cushing (1990) insiste sur l'importance de la coïncidence spatio-temporelle entre les larves et leurs proies planctoniques. Dû à leurs faibles réserves énergétiques, les larves venant de résorber leur sac vitellin en zone peu dense en proies vont connaître une baisse rapide de la condition. Même si de fortes abondances de proies peuvent se trouver dans une zone de rétention située à proximité, leurs faibles capacités de nage active ne leurs permettent pas de

limiter leur dérive (théorie « aberrant drift » Hjort, 1914). Ainsi le caractère planctonique des jeunes larves de poissons pourrait conduire à une forte variabilité de la condition même à fine échelle spatiale et temporelle.

Le risque de prédation peut également varier à fine échelle. Bailey et Houde (1989) montrent que si la pression de prédation exercée sur les larves de poissons est élevée dans une zone où la disponibilité de leurs propres proies est faible, il peut alors en résulter une bonne condition générale à l'échelle de la zone en raison de la perte des individus faibles.

Les ressources alimentaires, la prédation, la croissance larvaire et le statut nutritionnel présentent des irrégularités à petite échelle. Par conséquent, le succès de survie d'une cohorte, et donc du recrutement, pourrait au final être déterminé par le cumul de ces événements à petite échelle dans le temps et dans l'espace (Hunter, 1981). Les plus petites larves de stade 2 possèdent le plus fort taux de croissance alors qu'elles sont les plus sensibles au jeûne du fait d'une difficulté à s'alimenter. Les mécanismes hydrodynamiques ont une forte incidence sur elles. Elles sont aussi les plus impactées par la prédation (Pepin, 1991). Cependant, restreindre la variabilité du recrutement à ce seul stade de développement serait sous-estimer les autres pressions changeantes exercées sur les jeunes stades de vie des poissons au cours de leur développement.

2.2 La métamorphose

La métamorphose est connue pour être une phase sensible chez les poissons (Geffen et al., 2007). Cette phase correspond à la transition entre vie larvaire et juvénile. Chez les poissons plats, elle commence au stade 4 et s'accompagne de

changements anatomiques et comportementaux majeurs afin de passer d'une larve pélagique à symétrie bilatérale à un juvénile benthique asymétrique.

Dans le chapitre 3.1 il a été montré que les meilleures conditions physiques chez la sole se retrouvaient chez les individus de stade 4. L'étude de la condition de la plie en fonction de l'ontogénie (chapitre 4) a également montré que le stade 4 possédait la plus forte proportion d'individus en bonne condition (87%) alors qu'aucun individu en mauvaise santé n'a été trouvé. Ce chapitre a pu mettre en évidence les différentes stratégies adoptées par les larves de plie au cours de leur développement. Les jeunes larves semblent réduire le risque de prédation en favorisant la croissance (hypothèses « bigger is better », Miller et al., 1988 ; « faster is better » Anderson, 1988) plutôt que le stockage ce qui les rend plus sensibles au jeûne. Par contre, l'entrée en métamorphose est marquée par un changement de la stratégie de croissance car les larves ayant accumulé suffisamment de réserves durant les stades de prémétamorphose vont alors ralentir leur croissance. Elles vont donc avoir un risque de mauvaise condition nutritionnelle inférieur à celui de la prédation. Ainsi, les larves en prémétamorphose vont devoir garder un fort taux de croissance mais également accumuler suffisamment de réserves énergétiques pour pouvoir entrer en métamorphose.

Ces résultats indiquent que la métamorphose peut être considérée comme une autre période critique dans le développement des poissons, en particulier chez les poissons plats comme nous l'avons montré. Etant donné qu'aucun individu de stade 4 n'a été trouvé en mauvaise condition ou sans réserve énergétique, on peut supposer que les larves de plie de stade 3 n'ayant pas accumulé suffisamment d'énergie n'ont pas pu entrer en métamorphose comme cela avait été avancé par Brewster (1987). Ces individus restent ainsi en attente d'un meilleur statut

nutritionnel, prolongeant probablement la période larvaire. Cette autre période critique relèverait de l'hypothèse de « stage duration » (ou « single process ») énoncée par Cushing (1975). Cette hypothèse veut que les individus ayant rencontré des conditions alimentaires favorables vont commencer et achever la métamorphose à un âge plus jeune. Par conséquent, ces individus connaîtront une plus faible mortalité par prédation durant le stade larvaire (Leggett et Deblois, 1994).

2.3 L'installation

Une fois la métamorphose initiée, les poissons vont continuer leur transition vers le milieu benthique jusqu'à atteindre les nourriceries côtières et s'y installer comme juvéniles (Beck et al., 2001). L'installation est considérée comme une autre phase critique lors du développement des jeunes stades de poissons sachant que le succès de survie de cette phase est aussi influencé par des processus de densité dépendance (Nash et Geffen, 2000; van der Veer et al., 2000).

Dans cette thèse, les conditions rencontrées par les juvéniles n'ont pas été étudiées. Cependant, la forte proportion d'individus en mauvaise condition des stades 5 (dernier stade larvaire) de la sole (chapitre 3.1) laisse penser que la période critique de l'installation des poissons commencerait avant même que ceux-ci atteignent leurs zones de nourricerie. En accord avec la théorie de l'«optimal environmental window » (Cury et Roy, 1989), cette faible condition pourrait concerner les larves âgées n'arrivant pas à atteindre les nourriceries dû à des vents et courants non favorables.

2.4 Phases critiques et recrutement

Le démarrage de la nutrition exogène, de la métamorphose (au moins pour les poissons plats) et celui de l'installation sont donc des phases de transition sensibles

pour les poissons. Ces phases à forte mortalité créent un goulot d'étranglement dans la dynamique des populations et influencent le recrutement des populations.

Suivant la période sensible, les pressions s'exerçant sur la survie des jeunes stades de poissons sont donc variables en termes de prédominance et d'intensité. Ces pressions relèvent de processus biologiques, physiques et de leurs effets conjoints (Figure 59). Ainsi, les espèces semblent adopter différentes stratégies afin de réduire l'impact de ces pressions et réaliser un compromis entre les risques de prédation et les risques de dénutrition. En favorisant une croissance rapide, les larves qui commencent la nutrition exogène vont limiter le risque de prédation (Anderson, 1988) et rapidement augmenter leur succès de capture de proies face aux contraintes hydrodynamiques (China et Holzman, 2014). La survie de ces larves sera surtout dépendante d'une coïncidence spatio temporelle avec leurs proies (Cushing, 1990) et de transports favorables vers les zones favorables à une bonne croissance (Hjort, 1914). Les stades de prémétamorphoses vont maintenir un bon taux de croissance pour pouvoir ensuite à accumuler suffisamment de réserves énergétiques afin d'entrer en métamorphose. Le but est pour les larves de stocker un maximum de réserves, et ce le plus rapidement possible afin de limiter les risques de dénutrition et de prédation (Cushing, 1975). Les larves survivantes pourront ainsi entrer en métamorphose avec de bonnes réserves énergétiques. La conséquence de cette stratégie est que le risque de mortalité par la prédation sera prédominant sur le risque de mortalité par dénutrition. Là, la survie dépendra de facteurs physiques conduisant à des transports favorables (Cury et Roy, 1989) en direction des nourriceries côtières. Une fois dans leur nourricerie, les poissons nécessitant une certaine structure d'habitat comme les poissons plats vont connaître des

phénomènes de densité dépendance entraînant une forte compétition pour la nourriture (le Pape et Bonhommeau, 2015).

Suivant les espèces, le niveau de recrutement est fixé à partir de périodes critiques différentes. Chez certaines espèces le niveau de recrutement est corrélé à l'abondance des œufs (e.g plie ; van der Veer et Witte, 1993) tandis que chez les clupéidés, il sera déterminé pendant les stades larvaires les plus âgés, voire durant la phase juvénile (Nash et Dickey-Collas, 2005). Cependant, le stade qui détermine le recrutement peut également varier en réponse à un changement de régime écosystémique comme cela a été montré par Bailey (2000) sur le colin d'Alaska (*Theragra chalcogramma*) dans les années 1970.

La variabilité du recrutement des espèces de poissons marins est donc régulée par de nombreux facteurs agissant à plusieurs échelles. Les périodes critiques de mortalité ont lieu à différents stades de développement et varient selon les espèces. Ces périodes à fort taux de mortalité sont influencées par des processus biologiques et physiques qui agissent aussi bien à micro échelles spatiales (e.g micro turbulences, fragmentation de la densité de proies, rayon de perception et d'action des larves), qu'à des échelles beaucoup plus larges relevant d'un océan entier. Les échelles temporelles agissant sur la mortalité larvaire sont tout aussi importantes, allant de l'ordre du jour (rythme circadien) à celui de dizaines d'années (changement de régime écosystémique), en passant par les variations saisonnières.

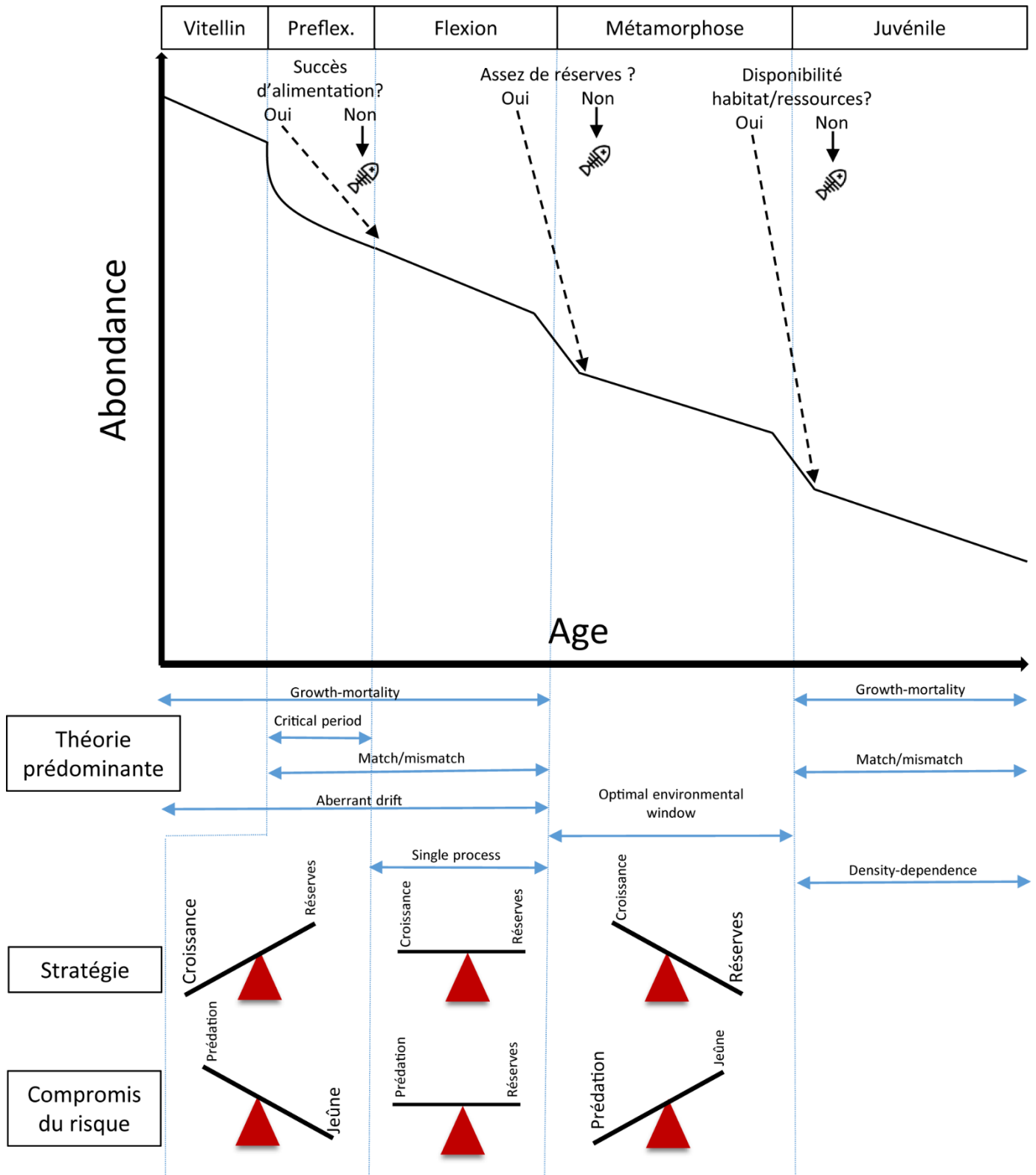


Figure 59 | Schéma de l'impact des phases critiques du développement des larves de poissons sur leurs abondances. Les pressions dominantes selon l'ontogénie sont représentées par les hypothèses qui les décrivent. Les stratégies (croissance et mise en réserve) et le risque de mortalité prédominant (prédation ou jeûne) ont été schématisés sous forme de balances. (Modifié et adapté de Houde, 1987).

3 Variations des assemblages en réponse aux changements environnementaux

3.1 Changements saisonniers

En régions tempérées, le climat connaît de fortes variations au cours de l'année contraignant les organismes à adapter leur phénologie face à cet environnement changeant. En MO-BSMN, c'est au printemps qu'on observe le plus de phases larvaires de diverses espèces (chapitre 2). Cependant, certaines espèces comme le hareng (notamment la composante reproductrice des Downs) ou la plie ont une stratégie différente avec une reproduction hivernale. Cette stratégie pourrait sembler être en contradiction avec la théorie du match/mismatch de Cushing (1990) qui veut que les poissons fassent coïncider les émergences larvaires avec les blooms planctoniques. Or, durant l'hiver, le système est moins productif (chapitre 2.1). Les assemblages larvaires hivernaux sont beaucoup moins diversifiés avec le hareng et la plie qui cumulent à eux seuls près de 98% des abondances totales (chapitre 2.1). Ainsi, même si très peu d'études se sont penchées sur les avantages qu'offre une reproduction hivernale, on peut penser que la faible production planctonique hivernale est suffisante pour le peu d'espèces ayant leur phase larvaire à cette saison ; celles-ci privilégiant un environnement avec une plus faible compétition pour les ressources que lors du printemps. Le succès d'installation des poissons plats tel que la plie relevant de mécanismes de densité dépendance (Le Pape et Bonhommeau 2015), une précocité du développement larvaire par rapport à d'autres espèces exploitant les mêmes ressources permettrait de limiter la compétition interspécifique lors de l'installation au sein des nourriceries côtières. Une autre hypothèse dans la stratégie hivernale réalisée par ces taxons pourrait venir d'une stratégie visant à diminuer la prédation. En effet, en hiver, le taux de prédation

est plus faible dû à un plus faible appétit et une plus faible activité des prédateurs en raison des faibles températures (Hufnagl et al., 2015; Pepin, 1991).

Ainsi, face à une forte compétition interspécifique printanière, certaines espèces préfèrent avoir leur pic larvaire lors d'une période moins favorable d'un point de vue de la production planctonique, mais moins risquée d'un point de vue compétition et prédation (Figure 60). Il en résulterait ainsi un taux de survie potentiellement équivalent.

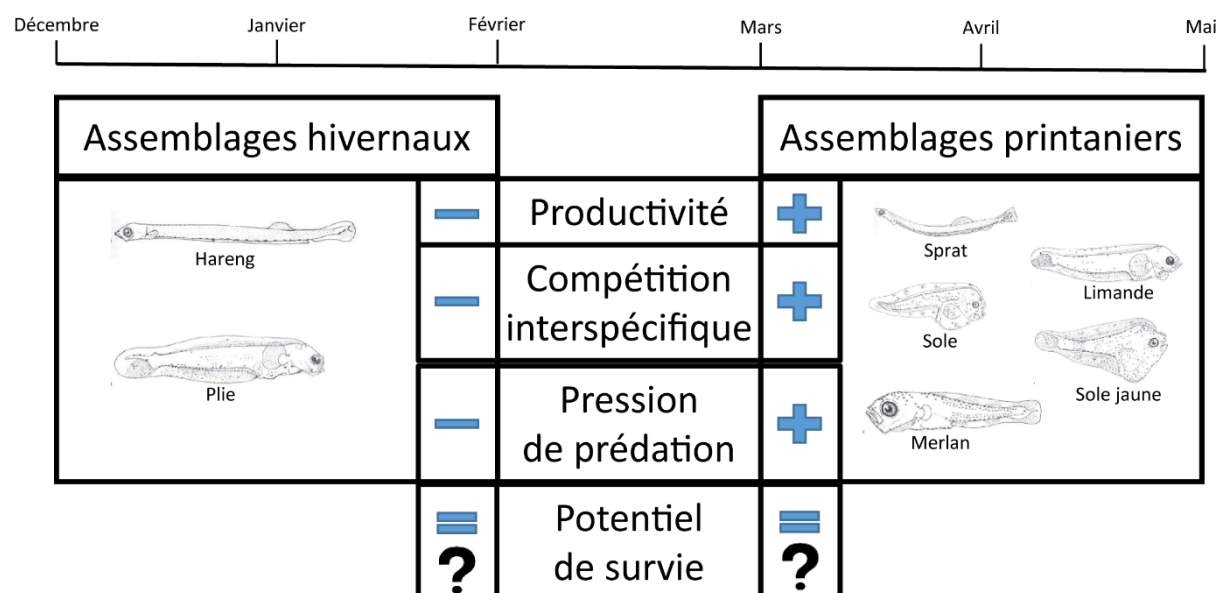


Figure 60 | Illustration des différences environnementales biotiques rencontrées par les assemblages larvaires printaniers et hivernaux. Les espèces représentées sont celles dominantes (cf. chapitre 2.2). Illustrations des larves issues de Russel (1976).

Même s'il est vrai que les différences majeures en termes d'assemblage s'observent entre les saisons, les assemblages varient également au cours d'une même saison. Selon leur valence et préférence écologique, plusieurs taxons vont se succéder au cours du printemps (chapitre 2). On va ainsi retrouver certaines espèces comme le sprat qui sera abondant sur une période étalée due à une forte capacité à tolérer une gamme relativement large de conditions environnementales. A contrario,

certaines espèces auront un pic d'abondance larvaire beaucoup plus restreint à une certaine période de la saison comme le chinchard (en fin de printemps) ou les ammodytids (en début de printemps). Il en résulte qu'à l'échelle d'une saison certains taxons sont considérés comme spécialistes (e.g petite sole jaune) tandis que d'autres seront plutôt ubiquistes (e.g sprat, sole et merlan).

En réponse aux variations de l'environnement, les assemblages larvaires vont dépendre de la dynamique de succession planctonique et de ses variations en termes de composition et d'abondance. En MO, le bloom planctonique de diatomées est observé en mars tandis que celui de phaeocystis est au mois d'avril et pseudo-nitzschia en mai (Antajan et al., 2019). Les abondances zooplanctoniques maximales ont été observées de mi-mars à mi-mai, avec le maximum enregistré mi-avril pendant le bloom de phaeocystis et de *Noctiluca scintillans*. Des différences phénologiques dans les pics d'abondances des niveaux trophiques inférieurs ont d'importantes conséquences pour les larves de poissons. Suivant le niveau de spécialisation alimentaire, le succès de survie des larves sera plus ou moins lié à la coïncidence phénologique entre larves et leurs proies préférentielles (Cushing, 1990). Or, dans un contexte de changement global (augmentation de la température, eutrophisation, acidification), on peut s'attendre qu'à une échelle pluriannuelle, des altérations se soient produites dans la saisonnalité des assemblages planctoniques (Beaugrand et al., 2003).

3.2 Changements à long terme

« The fauna of the southern North Sea exhibits clear changes. Particularly conspicuous is the increase of Mediterranean fish species and the occurrence of sardine eggs and larvae. There is no doubt, that these observations are associated with the climate change which has been shown to occur since several decades, and which, over the last years, has had important consequences for fisheries: decrease of catches, northwards shift of fishing grounds, adaptation to fisheries for different species.... particularly interesting questions are: will climate change continue and, also, shifts and changes of fish stocks, how long will this last, and which are the consequences, if this trend reverses ?» Aurich, 1953

Cette formulation faite il n'y a pas loin de 70 ans et reprise également par Alheit et al. (2014) semble plus que jamais d'actualité. Elle fait cependant référence à l'augmentation de la température et de ses conséquences observées entre 1925 et 1965 durant la précédente phase chaude de la AMO (Aurich, 1953).

Depuis le milieu des années 1990, un réchauffement significatif et comparable à celui du début du siècle est observé en Atlantique nord dû à un passage en phase chaude de la AMO (Drinkwater et al., 2014; Enfield et al., 2001). Par l'étude de séries temporelles historiques, Alheit et al., (2014) ont montré des changements multidécennaux synchrones en termes d'abondances et de répartitions de plusieurs populations de clupéidés. Ces changements sont apparus associés avec la AMO. Tandis que certaines populations sont positivement reliées à la AMO (e.g sardine en Manche), d'autres populations diminuent en abondances durant les phases chaudes (e.g anchois de méditerranée ouest). De manière plus locale, en MO, Auber et al., (2015, 2017) ont montré une baisse des abondances de poissons à la fin des années 1990 en lien avec la AMO. Par une approche sur les traits fonctionnels, McLean et

al., (2018b) ont montré que cette décroissance en MO concernait surtout les espèces de petits pélagiques et qu'elle s'accompagnait par l'augmentation de leur abondance en BSMN (Kenny et al., 2009; McLean et al., 2018a), ayant un impact négatif sur les stocks démersaux (Nye et al., 2014). D'autres groupes taxonomiques ont également été touchés notamment les communautés phyto et zooplanctoniques (Beaugrand, 2003 ; Alvarez-Fernandez et al., 2012), faisant de la AMO l'un des plus importants moteurs des macro-changements dans les enregistrements planctoniques de l'Atlantique nord (Edwards et al., 2013).

Ainsi, les changements de température en lien avec la AMO, induisant le changement d'autres variables tels que les régimes de circulation ont montré à travers de nombreuses études un effet majeur sur les communautés planctoniques et de poissons adultes océaniques (Hátún et al., 2009). Cependant peu d'études se sont focalisées sur les changements observés sur les assemblages ichtyoplanctoniques. Il est pourtant essentiel pour déceler les mécanismes ayant entraîné cette diminution des abondances de poissons et de comprendre comment les phases larvaires sensibles ont été impactées. En d'autres mots, étant donné que la survie des larves de poissons dépend fortement de la disponibilité en nourriture, elle pourrait avoir été affectée par les changements récents dans les communautés planctoniques (forçage "bottom-up") créant ainsi une baisse dans le recrutement (Capuzzo et al., 2018)

Nous avons montré dans le chapitre 2.2 une décroissance significative des abondances larvaires dans la période récente comparativement aux années 1990. Les principales espèces ayant subi une réduction de leurs abondances sont apparues être les mêmes que celles trouvées par Auber et al., (2017) pour les adultes. Bien que la série temporelle des relevés ichtyoplanctoniques au printemps

en MO utilisée dans cette étude possède une longue période sans relevés (de 1999 à 2017), cette décroissance nette pour la plupart des taxons questionne sur l'implication des changements environnementaux ayant eu lieu. La comparaison de la condition nutritionnelle de la sole (espèce ayant fortement diminué en abondance larvaire et adulte) a pu être réalisée entre deux années appartenant aux deux phases de la AMO (chapitre 3.1). Alors que les larves de sole en bonne condition se retrouvaient au sein d'une large gamme de stations échantillonnées en 1995, ces bonnes conditions se retrouvaient dans des zones beaucoup plus restreintes en 2017. Ainsi, même si au regard des proportions des différents niveaux de condition il ne semble pas y avoir de grandes différences entre les deux périodes, il existe bien une réduction de l'habitat de bonne condition pour les larves de sole.

Les changements environnementaux liés aux cycles atmosphériques font varier de manière significative les écosystèmes marins, impactant ainsi le succès de survie larvaire. Les changements environnementaux tels que les phases de la AMO conduisent à un forçage “bottom-up” sur les écosystèmes. Par conséquent, la survie larvaire et le recrutement vont répondre à ces changements des conditions environnementales. Le succès de survie de certains groupes taxonomiques au détriment d'autres peut conduire ensuite à un forçage “top-down” pour ces derniers dû aux fortes pressions de prédation exercées par les stocks de reproducteurs dominants (Nye et al., 2014). Ainsi, la production totale des écosystèmes et par conséquent la production halieutique changeant avec la AMO, les oscillations à long terme sont des questions importantes relatives à la gestion des pêches et des écosystèmes.

4 Perspectives

4.1 *Développement d'un nouvel indice de condition intégrateur du succès alimentaire*

Afin de pouvoir procéder à des analyses des conditions trophiques, il serait intéressant de développer un nouvel indice qui intégrerait tout au long du développement larvaire les conditions trophiques qu'auraient rencontrées les larves sur toute la période allant de la résorption du sac vitellin au moment où la larve a été capturée.

Les rapports d'isotopes stables ($\delta^{13}\text{C}$ et $\delta^{15}\text{N}$) sont largement utilisés en écologie trophique et fournissent des informations qui intègrent dans le temps les relations trophiques (Cabana et Rasmussen, 1994). Le $\delta^{15}\text{N}$ d'un organisme est utilisé pour indiquer la position trophique des consommateurs alors que le $\delta^{13}\text{C}$ traduit leurs sources de nourritures (DeNiro et Epstein, 1978). Or, Il a été montré chez les poissons que la signature isotopique des œufs et des larves vitellines est très élevée car identique à celle des parents (Zanden et al., 1998). Les auteurs ont montré que dès l'initiation de l'alimentation exogène, le $\delta^{15}\text{N}$ commence à décliner. De plus, l'azote endogène (maternel) est complètement dilué par l'azote exogène (alimentaire) seulement au moment de la métamorphose. Ce phénomène pourrait permettre de développer un indice isotopique qui traduirait les événements de prédation réalisés par les larves de poisson selon le taux de dilution de l'azote maternel (Figure 61).

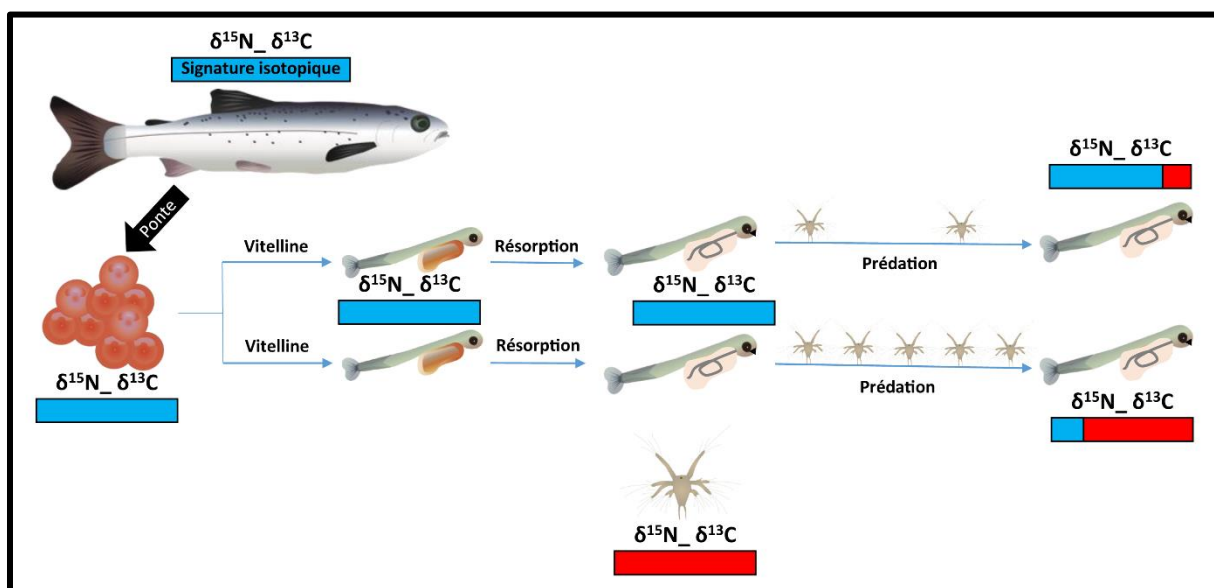


Figure 61 | Schéma résumant le protocole d'un futur indice de condition basé sur les mesures isotopiques intégrant les conditions dans le temps. Le taux de dilution de la signature isotopique maternelle est proportionnel au succès alimentaire des larves de poissons. Silhouettes libres de droit (ian.umces.edu/imagelibrary/).

Suite à l'initiation de la nutrition exogène (résorption du sac vitellin), pour un âge donné, plus la larve aura pu s'alimenter avec succès, plus la signature isotopique maternelle sera diluée.

Cet indice pourrait avoir une bonne complémentarité avec ceux utilisés dans cette thèse. En réalisant les mesures sur les muscles de la partie caudale, il pourrait être couplé à l'histologie. Cela pourrait permettre de différencier les larves en condition intermédiaire dû à une période de jeûne modéré, de celles en condition intermédiaire suite à une reprise alimentaire après une longue période de jeûne. Cet indice pourrait être couplé à l'otolithométrie afin de comparer la signature isotopique de larves ayant un âge identique. Cet indice fournirait une valeur intégrée dans le temps du succès d'alimentation et donc de la condition trophique des individus au moment de la capture pour un âge donné. A l'échelle d'une zone d'étude, il pourrait illustrer les événements de match/mismatch entre larves et proies.

4.2 Intégrer les mesures de condition à long terme dans les modèles de recrutement

Dans un contexte de changement global, des changements à l'échelle de l'écosystème sont donc observés. Les variations environnementales liées au changement de phase de certains cycles climatiques tel que la AMO ne sont pas nouveaux mais les activités humaines allant en s'accroissant, la part de ce changement global qui leur est imputable reste encore à définir. Outre le réchauffement des océans, les changements globaux s'accompagnent d'une eutrophisation et d'une acidification de l'océan dues aux activités humaines. On sait que ces deux phénomènes ont des répercussions importantes sur la complexité des réseaux trophiques planctoniques. L'eutrophisation des écosystèmes côtiers s'est accrue depuis les dernières décennies en réponse à l'enrichissement en nutriments d'origine anthropique (Canfield et al., 2010). Il est prouvé que l'eutrophisation peut entraîner des changements dans les populations planctoniques en stimulant la floraison d'espèces spécifiques de phytoplancton (Anderson et al., 2002) qui peuvent devenir dominantes et avoir un impact sur les niveaux trophiques supérieurs et la chaîne alimentaire planctonique globale (Schmoker et al., 2016), impactant ainsi la survie des assemblages ichthyoplanctoniques. L'absorption océanique du CO₂ émis par les industries humaines a entraîné une acidification des océans (Caldeira et Wickett, 2003). L'acidification a des impacts directs sur les taxons planctoniques calcifiés (Orr et al., 2005), limitant leur capacité à construire des structures. Les effets directs sur les larves de poissons ont des impacts négatifs sur leur capacité olfactive (Munday et al., 2009), le développement des otolithes (Maneja et al., 2013) ou encore la structure tissulaire (Frommel et al., 2014). Ces effets à l'échelle individuelle

se répercutent sur la survie larvaire (Baumann et al., 2012), conduisant à une baisse du recrutement (Stiasny et al., 2016).

Les effets directs et indirects des changements globaux sur les assemblages larvaires et leur succès de survie sont donc nombreux. Ils agissent à des échelles de temps larges, rendant leur observation complexe dans le milieu naturel. Ainsi, afin de mieux intégrer les pressions exercées par l'environnement sur la survie larvaire et leur incidence changeante face au changement global, il paraît de première nécessité de mettre en œuvre des campagnes d'échantillonnage du compartiment larvaire et d'étudier la condition de manière continue et pérenne. En MO-BSMN, la campagne IBTS échantillonne les assemblages larvaires hivernaux de manière régulière depuis plusieurs années, avec une attention toute particulière sur les larves de hareng. Or, la plupart des espèces se reproduisant au printemps, des campagnes printanières permettraient de mieux comprendre la dynamique des populations face à un environnement changeant. Couplé à des analyses de condition réalisées en routine, les résultats des abondances et des conditions environnementales permettraient d'évaluer l'incidence des changements environnementaux sur la condition larvaire et le taux de recrutement observé (situations de "match/mismatch"), et ainsi d'utiliser le compartiment ichtyoplanctonique comme sentinelle des changements environnementaux. Ne pouvant pas être réalisés sur toutes les espèces, les modèles biologiques devraient se restreindre aux espèces les plus abondantes et à stratégies de vie différentes, selon la période échantillonnée comme par exemple le hareng et la plie en hiver ou le sprat et la sole au printemps.

Les modèles numériques connaissent un essor au sein de la communauté halieutique, étant de plus en plus performant pour évaluer et prédire le recrutement et sa variabilité (Miller, 2007). On a vu précédemment que les théories liées au

déterminisme du recrutement se classent en trois groupes selon leur nature, c'est-à-dire celles liées à la disponibilité en proies, celles de transports favorables et celles liées aux pressions de prédation. Cependant, comme évoqué par Govoni (2005), ces hypothèses dépendent du contexte physique des zones d'étude. Ainsi, les processus biologiques et physiques doivent être couplés pour une bonne compréhension du recrutement. Ces modèles individus centrés couplant la physique et la biologie ont été largement revues par Miller (2007) qui a montré leur réel intérêt pour la prédiction des taux de recrutement. En effet, l'intégration de la variabilité individuelle au sein des modèles de recrutement est essentielle, les survivants n'étant pas une partie aléatoire des cohortes larvaires.

A la vue des résultats obtenus dans cette thèse, un affinement à l'échelle des stades de développement serait souhaitable, les larves ne rencontrant pas les mêmes intensités des pressions biologiques et physiques au cours de leur développement. Inclure tous les jeunes stades de vie des poissons n'est peut-être pas nécessaire et se focaliser sur les phases sensibles comme le stade 2, la métamorphose et l'installation pourrait être suffisant. Ainsi, une vision globale des abondances et de la condition rencontrée par les jeunes stades de vie en fonction des paramètres environnementaux sur une longue série temporelle permettrait de mieux évaluer et prédire à l'aide de modèles de couplage le succès de recrutement des poissons. Cela permettrait d'un point de vue halieutique d'établir des politiques d'exploitation plus durables dans un contexte de décroissance globale des stocks de poissons commerciaux, et également d'un point de vue plus fondamental, une meilleure vision des processus écologiques liés aux larves et qui ont un effet sur la régulation des populations (Miller, 2007).

4.3 Aller plus loin dans la compréhension des facteurs de forçage du recrutement

Parmi les cinq grands mécanismes responsables de la variabilité du recrutement (Houde, 2008) (température, hydrodynamisme, croissance, présence de proies et prédateurs), la disponibilité en proie et le risque de prédation en tant que facteurs de régulation des cohortes larvaires se doivent d'être mieux compris et intégrés dans les modèles de recrutement. Outre le jeûne, la prédation est souvent énoncée comme le premier facteur de mortalité des jeunes stades de vie des poissons (Houde, 2008). Cependant, l'impact de la prédation est difficilement mesurable en milieu naturel, d'autant que cette pression est dépendante de l'ontogénie et de la condition (Bailey et Houde, 1989). Parmi les prédateurs considérés comme ayant effet important sur la survie larvaire, les gélatineux agissent de manière directe (prédation) et indirecte (compétition) sur la mortalité des larves (Brodeur et al., 2008). En effet, les larves de hareng par exemple subissent une forte pression de prédation de la part de *Aurelia aurita* (Baie de Kiel, Mer Baltique) comme démontré par Möller (1984), de même que les larves d'anchois en méditerranée par *Pelagia noctiluca* (Tilves et al., 2016). Le taux de prédation subit par les cohortes larvaires en fonction de leur condition et de l'ontogénie serait donc un paramètre essentiel à intégrer au sein de modèles écosystémiques de recrutement. Pour établir un proxy de cette pression de prédation en fonction des paramètres dépendants, l'évaluation *ex situ* des réponses fonctionnelles de prédateurs (taux d'ingestion en fonction de la densité de proies pendant un temps fixe (Hassel et al., 1976)) en fonction de la réponse individuelle des larves de poissons selon leur traitement (niveau de jeûne/condition) pourrait être couplée à une approche d'évaluation de l'impact du jeûne *in situ* (Figure 62).

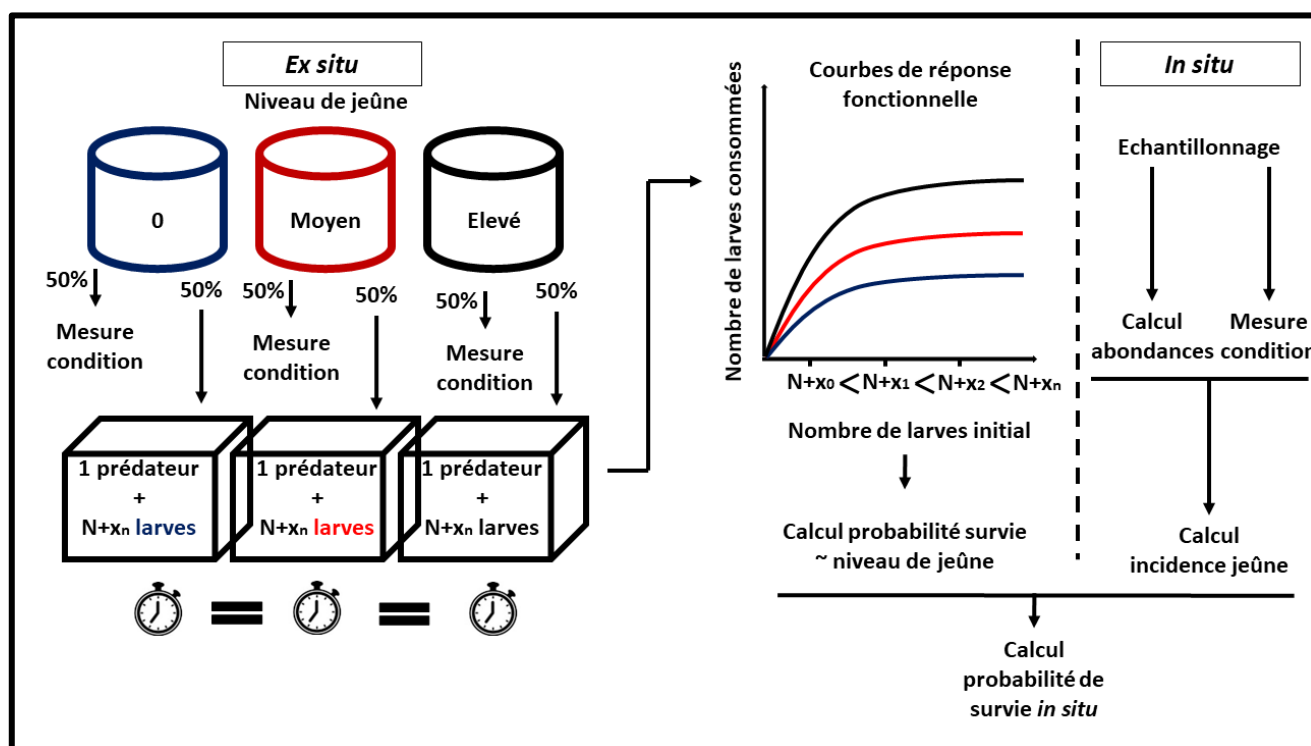


Figure 62 | Protocole de 1) l'étude *ex situ* des réponses fonctionnelles de prédation en fonction du niveau de condition des proies (larves de poissons), 2) l'étude *in situ* de l'incidence du jeûne dans les cohortes larvaires et 3) du couplage des résultats obtenus.

Le but serait dans un premier temps de mesurer la condition des larves de poissons ayant subi différents niveaux de jeûne en milieux contrôlés où seul le temps écoulé depuis la dernière prise alimentaire réalisée par les larves aura varié. Dans des bacs d'expérimentation des relations proies-prédateur, l'autre partie des larves seraient exposées à différents niveaux d'abondances ($N+x_n$) et pour un temps fixe entre les traitements à un ou plusieurs prédateurs modèles (gélatineux ou poisson adulte). Plusieurs réplicats par traitement et nombre de larves initial devraient être réalisés. Ensuite, le nombre de larves consommées en fonction du nombre de larve initial serait représenté pour chaque traitement (niveau de jeûne). En supposant que la réponse fonctionnelle du prédateur suive une courbe asymptotique ou sigmoïde (réponse de Holling de type II ou type III), il serait possible d'extraire un taux prédation en fonction de la condition des larves, ainsi qu'une probabilité de survie et

un taux de mortalité (Holling, 1966). En parallèle, les larves seraient échantillonnées dans le milieu naturel dans le but de coupler les données d'abondances de chaque station à celles des mesures de condition afin d'obtenir un pourcentage des différents niveaux de condition des cohortes larvaires, tel que cela a été fait dans cette thèse. En couplant les résultats expérimentaux aux résultats de condition *in situ*, il serait ainsi possible d'obtenir pour chaque type de conditions observées dans le milieu naturel, une probabilité de survie face à la prédation. Cela permettrait d'avoir une idée plus précise de l'abondance totale de larves qui seraient capables de survivre aux premiers stades de vie et d'étudier les effets synergiques du jeûne et de la prédation.

5 Conclusion

Dans cette thèse nous avons observé que les assemblages larvaires printaniers auraient subi une forte chute d'abondance entre les années 90 et 2017. Bien qu'il n'y ait pas eu d'observations en continu entre ces périodes, cela serait cohérent avec les tendances mesurées en MO sur les adultes pour les mêmes espèces que celles qui ont été étudiées dans cette thèse. Cette chute pourrait potentiellement venir d'un effet "bottom up" dû aux changements environnementaux ayant eu lieu lors du changement de phase de la AMO à la fin des années 90, impactant le succès de survie larvaire. Le caractère planctonique des jeunes larves de poissons et leur faible disponibilité en réserves énergétiques les rendent très dépendantes de conditions environnementales favorables. La restriction observée des zones fournissant une condition optimale des larves de soles en MO en 2017 comparé à 1995 pourrait être la cause des faibles recrutements observés. En effet, de faibles variations du taux de survie larvaire peuvent avoir un fort impact sur la dynamique des populations (Houde, 1987). Les facteurs de forçage du recrutement

sont bien connus (Houde, 2008). Mise à part les caractéristiques biologiques des espèces (e.g fécondité, durée de vie), ils concernent l'impact qu'auront l'environnement, notamment la température, ainsi que les processus hydrologiques (rétention, turbulence) sur les larves de poissons. Ils ont un effet direct sur leur survie impactant le succès d'alimentation des larves (China et Holzman, 2014; Pepin, 1991), et indirect, faisant varier la durée de vie larvaire (Pepin et Myers, 1991). Il s'ajoute à ces impacts la pression de prédation (Leggett et DeBlois, 1994). Cependant, la nature changeante des facteurs de forçage du recrutement rend complexe à interpréter leurs effets individuels et synergiques sur les taux de recrutement.

Les résultats de cette thèse ont permis de mieux comprendre comment la condition larvaire était impactée *in situ*. Nous avons ainsi développé une nouvelle échelle de grades de condition adaptée pour les études en milieu naturel. Cette méthode couplée aux indices physiologiques a permis de mieux évaluer les périodes critiques du développement et comment l'environnement agit sur elles. Couplée à l'autre facteur dominant de mortalité, la prédation, l'étude de la condition larvaire à long terme permettrait de pouvoir répondre à une question aussi complexe que l'influence de l'environnement sur le succès de survie des larves de poissons.

Références

Ackman, R.G. (1989). *Marine Biogenic Lipids, Fats and Oils* (CRC Press).

Ahlstrom, E.H. (1984). *Ontogeny and systematics of fishes : based on an international symposium dedicated to the memory of Elbert Halvor Ahlstrom / ([New York] : American Society of Ichthyologists and Herpetologists,).*

Alheit, J. (1988). Reproductive biology of sprat (*Sprattus sprattus*) : Factors determining annual egg production. *ICES J. Mar. Sci.* **44**, 162–168.

Alheit, J., Licandro, P., Coombs, S., Garcia, A., Giráldez, A., Santamaría, M.T.G., Slotte, A., and Tsikliras, A.C. (2014). Atlantic Multidecadal Oscillation (AMO) modulates dynamics of small pelagic fishes and ecosystem regime shifts in the eastern North and Central Atlantic. *J. Mar. Syst.* **131**, 21–35.

Alvarez-Fernandez, S., Lindeboom, H., and Meesters, E. (2012). Temporal changes in plankton of the North Sea: community shifts and environmental drivers. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **462**, 21–38.

Amara, R., and Paul, C. (2003). Seasonal patterns in the fish and epibenthic crustaceans community of an intertidal zone with particular reference to the population dynamics of plaice and brown shrimp. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **56**, 807–818.

Anderson, J.T. (1988). A review of size-dependent survival during pre-recruit stages of fishes in relation to recruitment. *J Northwest Atl Fish Sci* **55–66**.

Anderson, M.J., and Cribble, N.A. (1998). Partitioning the variation among spatial, temporal and environmental components in a multivariate data set. *Aust. J. Ecol.* **23**, 158–167.

Anderson, D.M., Glibert, P.M., and Burkholder, J.M. (2002). Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries* **25**, 704–726.

Antajan, E., Devreker, D., Loots, C., Rocroy, M., Alizier, S., and Ruellet, T. (2019). Surveillance écologique du site de production électronucléaire de Gravelines. Novembre 2017 – Octobre 2018.

Auber, A., Travers-Trolet, M., Villanueva, M.C., and Ernande, B. (2015). Regime Shift in an Exploited Fish Community Related to Natural Climate Oscillations. *PLOS ONE* **10**, e0129883.

Auber, A., Gohin, F., Goascoz, N., and Schlaich, I. (2017). Decline of cold-water fish species in the Bay of Somme (English Channel, France) in response to ocean warming. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* **189**, 189–202.

Aurich, H.J. (1953). Verbreitung und Laichverhältnisse von Sardelle und Sardine in der südöstlichen Nordsee und ihre Veränderungen als Folge der Klimaänderung. *Helgoländer Wiss. Meeresunters.* **4**, 175–204.

Baho, D.L., Futter, M.N., Johnson, R.K., and Angeler, D.G. (2015). Assessing temporal scales and patterns in time series: Comparing methods based on redundancy analysis. *Ecol. Complex.* **22**, 162–168.

Bailey, K.M. (2000). Shifting control of recruitment of walleye pollock *Theragra chalcogramma* after a major climatic and ecosystem change. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **198**, 215–224.

- Bailey, K.M., and Houde, E.D. (1989). Predation on Eggs and Larvae of Marine Fishes and the Recruitment Problem. In *Advances in Marine Biology*, J.H.S.B. and A.J. Southward, ed. (Academic Press), pp. 1–83.
- Bailey, M. K., Canino, F. M., Napp, M. J., Spring, M. S., Brown, and L. A. (1995). Contrasting years of prey levels, feeding conditions and mortality of larval walleye pollock *Theragra chalcogramma* in the western Gulf of Alaska. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 119, 11–23.
- Bakun, A. (1998). Ocean triads and radical interdecadal variation: bane and boon to scientific fisheries management | SpringerLink.
- Barbut, L., Grego, C.G., Delerue-Ricard, S., Vandamme, S., Volckaert, F.A.M., and Lacroix, G. (2019). How larval traits of six flatfish species impact connectivity. *Limnol. Oceanogr.* 0.
- Baumann, H., Talmage, S.C., and Gobler, C.J. (2012). Reduced early life growth and survival in a fish in direct response to increased carbon dioxide. *Nat. Clim. Change* 2, 38–41.
- Beaugrand, G. (2003). Long-term changes in copepod abundance and diversity in the north-east Atlantic in relation to fluctuations in the hydroclimatic environment. *Fish. Oceanogr.* 12, 270–283.
- Beaugrand, G., Brander, K.M., Alistair Lindley, J., Souissi, S., and Reid, P.C. (2003). Plankton effect on cod recruitment in the North Sea. *Nature* 426, 661–664.
- Beck, M.W., Heck, K.L., Able, K.W., Childers, D.L., Eggleston, D.B., Gillanders, B.M., Halpern, B., Hays, C.G., Hoshino, K., Minello, T.J., et al. (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, 633–641.
- van Beek, F.A., Rijnsdorp, A.D., and de Clerck, R. (1989). Monitoring juvenile stocks of flatfish in the Wadden Sea and the coastal areas of the southeastern North Sea. *Helgoländer Meeresunters.* 43, 461–477.
- Bennet, D., Casey, J., Dare, P., Dawson, W., Flatman, S., Hulme, T., Macer, C., Millner, R., Pickett, G., Vince, M., et al. (1993). Identification biogéographique des principaux stocks exploités en Manche, relations avec ceux des régions voisines.
- Benoît, H.P., and Pepin, P. (1999). Individual variability in growth rate and the timing of metamorphosis in yellowtail flounder *Pleuronectes ferrugineus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 184, 231–244.
- Benoît, H.P., Pepin, P., and Brown, J.A. (2000). Patterns of metamorphic age and length in marine fishes, from individuals to taxa. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57, 856–869.
- Beverton, R.J.H. (1995). Spatial limitation of population size; The concentration hypothesis. *Neth. J. Sea Res.* 34, 1–6.
- Blanchet, F.G., Legendre, P., and Borcard, D. (2008). Forward Selection of Explanatory Variables. *Ecology* 89, 2623–2632.
- Blaxter, J.H.S. (1991). The Effect of Temperature On Larval Fishes. *Neth. J. Zool.* 42, 336–357.
- Blaxter, J., and Ehrlich, K. (1974). Changes in behaviour during starvation of herring and plaice larvae. In *The Early Life History of Fish*, (Springer), pp. 575–588.
- Borcard, D., and Legendre, P. (2002). All-scale spatial analysis of ecological data by means of principal coordinates of neighbour matrices. *Ecol. Model.* 153, 51–68.
- Borcard, D., Gillet, F., and Legendre, P. (2018). *Numerical Ecology with R* (Springer).

- Boulhic, M. (1991). Recherches d'indices de jeûne chez la larve de sole, *Solea solea* (Linnaeus, 1758): approche expérimentale et application dans le golfe de Gascogne.
- Boulhic, M., and Gabaudan, J. (1992). Histological study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus 1758). *Aquaculture* 102, 373–396.
- Brewster, B. (1987). Eye migration and cranial development during flatfish metamorphosis: a reappraisal (Teleostei: Pleuronectiformes). *J. Fish Biol.* 31, 805–833.
- Brylinski, J.-M. (1986). Méthode de détection des gradients faunistiques: les courbes FCT. Répartition du zooplancton au large du Cap Gris-Nez (France). *Oceanol. Acta* 9, 457–467.
- Brylinski, J.-M., and Lagadeuc, Y. (1988). Influence du coefficient de la marée sur la répartition côtière d'une espèce planctonique à affinités côtières: *Temora longicornis* (crustacé, copépode). *Comptes Rendus Académie Sci. Sér. 3 Sci. Vie* 307, 183–187.
- Brylinski, J.-M., and Lagadeuc, Y. (1990). L'interface eaux côtières/eaux du large dans le Pas-de-Calais (côte française): une zone frontale. *Comptes Rendus Académie Sci. Sér. 2 Mécanique Phys. Chim. Sci. Univers Sci. Terre* 311, 535–540.
- Buckley, L.J. (1979). Relationships Between RNA–DNA Ratio, Prey Density, and Growth Rate in Atlantic Cod (*Gadus morhua*) Larvae. *J. Fish. Res. Board Can.* 36, 1497–1502.
- Buckley, L., Caldarone, E., and Ong, T.-L. (1999). RNA–DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. In *Molecular Ecology of Aquatic Communities*, J.P. Zehr, and M.A. Voytek, eds. (Springer Netherlands), pp. 265–277.
- Buckley, L., Caldarone, E., and Clemmesen, C. (2008). Multi-species larval fish growth model based on temperature and fluorometrically derived RNA/DNA ratios: results from a meta-analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 371, 221–232.
- Buckley, L.J., Caldarone, E.M., Lough, R.G., and OngeBurns, J.M.S. (2006). Ontogenetic and seasonal trends in recent growth rates of Atlantic cod and haddock larvae on Georges Bank: effects of photoperiod and temperature. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 325, 205–226.
- Bulow, F.J. (1970). RNA–DNA Ratios as Indicators of Recent Growth Rates of a Fish. *J. Fish. Res. Board Can.* 27, 2343–2349.
- Cabana, G., and Rasmussen, J.B. (1994). Modelling food chain structure and contaminant bioaccumulation using stable nitrogen isotopes. *Nature* 372, 255–257.
- Caldarone, E.M. (2005). Estimating growth in haddock larvae *Melanogrammus aeglefinus* from RNA:DNA ratios and water temperature. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 293, 241–252.
- Caldarone, E.M., OngeBurns, J.M.S., and Buckley, L.J. (2003). Relationship of RNA/DNA ratio and temperature to growth in larvae of Atlantic cod *Gadus morhua*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 262, 229–240.
- Caldarone, E.M., Clemmesen, C.M., Berdalet, E., Miller, T.J., Folkvord, A., Holt, G.J., Olivar, M.P., and Suthers, I.M. (2006). Intercalibration of four spectrofluorometric protocols for measuring RNA/DNA ratios in larval and juvenile fish: Intercalibration of RNA/DNA protocols. *Limnol. Oceanogr. Methods* 4, 153–163.
- Caldeira, K., and Wickett, M.E. (2003). Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* 425, 365–365.
- Canfield, D.E., Glazer, A.N., and Falkowski, P.G. (2010). The evolution and future of Earth's nitrogen cycle. *Science* 330, 192–196.
- Canino, M.F., Bailey, K.M., and Incze, L.S. (1991). Temporal and geographic differences in feeding and nutritional condition of walleye pollock larvae *Theragra chalcogramma* in Shelikof Strait, Gulf of Alaska. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 79, 27–35.

- Capuzzo, E., Lynam, C.P., Barry, J., Stephens, D., Forster, R.M., Greenwood, N., McQuatters-Gollop, A., Silva, T., Leeuwen, S.M. van, and Engelhard, G.H. (2018). A decline in primary production in the North Sea over 25 years, associated with reductions in zooplankton abundance and fish stock recruitment. *Glob. Change Biol.* 24, e352–e364.
- Carpentier, A. (ed), Institut Francais de Recherche pour l'Exploitation de la Mer, B. (France) fre, Martin, C.S. (ed), and Vaz, S. (ed) (2009). Channel habitat atlas for marine resource management.
- Catalán, I., Olivar, M., Palomera, I., and Berdalet, E. (2006). Link between environmental anomalies, growth and condition of pilchard *Sardina pilchardus* larvae in the northwestern Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 307, 219–231.
- Catalán, I.A., Olivar, M.P., and Berdalet, E. (2015). Comparison of biochemical, histological and morphological response of muscle-based condition indices to varying food levels in pre-flexion *Dicentrarchus labrax* (L.) larvae. *BioRxiv* 023630.
- Chambers, R.C., and Leggett, W.C. (1989). Event Analysis Applied to Timing in Marine Fish Ontogeny. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 1633–1641.
- Chícharo, M.A., and Chícharo, L. (2008). RNA:DNA Ratio and Other Nucleic Acid Derived Indices in Marine Ecology. *Int. J. Mol. Sci.* 9, 1453–1471.
- Chícharo, M.A., Chícharo, L., Valdés, L., López-Jamar, E., and Ré, P. (1998). Estimation of starvation and diel variation of the RNA/DNA ratios in field-caught *Sardina pilchardus* larvae off the north of Spain. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 164, 273–283.
- China, V., and Holzman, R. (2014). Hydrodynamic starvation in first-feeding larval fishes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 111, 8083–8088.
- Christensen, M.N., and Korsgaard, B. (1999). Protein metabolism, growth and pigmentation patterns during metamorphosis of plaice (*Pleuronectes platessa*) larvae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 237, 225–241.
- Ciotti, B.J., Targett, T.E., Nash, R.D.M., Batty, R.S., Burrows, M.T., and Geffen, A.J. (2010). Development, validation and field application of an RNA-based growth index in juvenile plaice *Pleuronectes platessa*. *J. Fish Biol.* 77, 2181–2209.
- Clark, R.S. (1920). The pelagic young and early bottom stages of teleosteans. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 12, 159–240.
- Clark, R.A., and Frid, C.L. (2001). Long-term changes in the North Sea ecosystem. *Environ. Rev.* 9, 131–187.
- Clemmesen, C. (1994). The effect of food availability, age or size on the RNA/DNA ratio of individually measured herring larvae: laboratory calibration. *Mar. Biol.* 118, 377–382.
- Clemmesen, C.M. (1987). Laboratory studies on RNA/DNA ratios of starved and fed herring (*Clupea harengus*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae. *J. Cons.* 43, 122–128.
- Clemmesen, C., Sanchez, R., and Wongtschowski, C. (1998). A regional comparison of the nutritional condition of SW Atlantic anchovy larvae, *Engraulis anchoita*, based on RNA/DNA ratios. *Oceanogr. Lit. Rev.* 6, 980.
- Colebrook, J.M. (1982). Continuous plankton records: seasonal variations in the distribution and abundance of plankton in the North Atlantic Ocean and the North Sea. *J. Plankton Res.* 4, 435–462.
- Comerford, S., Brophy, D., Fox, C.J., Taylor, N., Veer, H.W. van der, Nash, R.D.M., and Geffen, A.J. (2013). Temperature effect on growth and larval duration of plaice *Pleuronectes platessa* in three regions of the Northeast Atlantic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 476, 215–226.
- Corten, A. (2013). Recruitment depressions in North Sea herring. *ICES J. Mar. Sci.* 70, 1–15.

- Costalago, D., Tecchio, S., Palomera, I., Álvarez-Calleja, I., Ospina-Álvarez, A., and Raicevich, S. (2011). Ecological understanding for fishery management: Condition and growth of anchovy late larvae during different seasons in the Northwestern Mediterranean. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 93, 350–358.
- Costalago, D., Strydom, N., and Frost, C. (2014). Nutritional condition of fish larvae in South African estuaries: an appraisal of three biochemical methods. *Afr. J. Mar. Sci.* 36, 377–386.
- Craig, J.K., Rice, J.A., Crowder, L.B., and Nadeau, D.A. (2007). Density-dependent growth and mortality in an estuary-dependent fish: an experimental approach with juvenile spot *Leiostomus xanthurus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 343, 251–262.
- Crespo, S., Marín de Mateo, M., Santamaría, C.A., Sala, R., Grau, A., and Pastor, E. (2001). Histopathological observations during larval rearing of common dentex *Dentex dentex* L. (Sparidae). *Aquaculture* 192, 121–132.
- Cury, P., and Roy, C. (1989). Optimal environmental window and pelagic fish recruitment success in upwelling areas. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 670–680.
- Cushing, D.H. (1975). *Marine Ecology and Fisheries* (CUP Archive).
- Cushing, D.H. (1990). Plankton Production and Year-class Strength in Fish Populations: an Update of the Match/Mismatch Hypothesis. In *Advances in Marine Biology*, J.H.S.B. and A.J. Southward, ed. (Academic Press), pp. 249–293.
- Dawidowicz, E.A. (1987). Dynamics of Membrane Lipid Metabolism and Turnover. *Annu. Rev. Biochem.* 56, 43–57.
- Delavenne, J., Marchal, P., and Vaz, S. (2013). Defining a pelagic typology of the eastern English Channel. *Cont. Shelf Res.* 52, 87–96.
- DeNiro, M.J., and Epstein, S. (1978). Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochim. Cosmochim. Acta* 42, 495–506.
- Denis, J., Mahe, K., Tavernier, E., Monchy, S., Vincent, D., Vallet, C., Marchal, P., Antajan, E., Caboche, J., Lefebvre, V., et al. (2017). Ontogenetic changes in the larval condition of Downs herring: use of a multi-index approach at an individual scale. *Mar. Biol.* 164, 154.
- Deplano, M., Diaz, J.P., Connes, R., Kentouri-Divanach, M., and Cavalier, F. (1991). Appearance of lipid-absorption capacities in larvae of the sea bass *Dicentrarchus labrax* during transition to the exotrophic phase. *Mar. Biol.* 108, 361–371.
- Diaz, J.P., Guyot, E., Vigierand, S., and Connes, R. (1997). First events in lipid absorption during post-embryonic development of the anterior intestine in gilt-head sea bream. *J. Fish Biol.* 51, 180–192.
- Diaz, M.V., Pájaro, M., Olivar, M.P., Martos, P., and Macchi, G.J. (2011). Nutritional condition of Argentine anchovy *Engraulis anchoita* larvae in connection with nursery ground properties. *Fish. Res.* 109, 330–341.
- Diaz, M.V., Arano, M.F., Pájaro, M., Aristizábal, E.O., Macchi, G.J., Diaz, M.V., Arano, M.F., Pájaro, M., Aristizábal, E.O., and Macchi, G.J. (2013). The use of morphological and histological features as nutritional condition indices of *Pagrus pagrus* larvae. *Neotropical Ichthyol.* 11, 649–660.
- Diaz, M.V., Olivar, M.P., and Macchi, G.J. (2014). Larval condition of *Merluccius hubbsi* (Marini, 1933) in the northern Patagonian spawning ground. *Fish. Res.* 160, 60–68.
- Diaz, M.V., Gómez, M.I., Sánchez, S., and Fuentes, C.M. (2018). Ontogenetic changes in DNA and RNA content of laboratory-reared *Prochilodus lineatus* larvae: use of RNA/DNA ratios as indicators of nutritional condition. *Mar. Freshw. Res.*

- Dickey-Collas, M., Bolle, L.J., Beek, J.K.L. van, and Erftemeijer, P.L.A. (2009). Variability in transport of fish eggs and larvae. II. Effects of hydrodynamics on the transport of Downs herring larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 390, 183–194.
- Do Souto, M., Brown, D.R., Leonarduzzi, E., Capitanio, F.L., and Diaz, M.V. (2019). Nutritional condition and otolith growth of *Engraulis anchoita* larvae: The comparison of two life traits indexes. *J. Mar. Syst.* 193, 94–102.
- Dolédec, S., Chessel, D., and Gimaret-Carpentier, C. (2000). Niche separation in community analysis: a new method. *Ecology* 81, 2914–2927.
- Dorel, D., Koutsikopoulos, C., Desaunay, Y., and Marchand, J. (1991). Seasonal distribution of young sole (*Solea solea* (L.)) in the nursery ground of the bay of Vilaine (Northern bay of Biscay). *Neth. J. Sea Res.* 27, 297–306.
- Dray, S., Dufour, A. (2007). “The ade4 Package: Implementing the Duality Diagram for Ecologists.” *J. Journal of Statistical Software*, *22*(4), 1-20. doi: 10.18637/jss.v022.i04
- Dray, S., Legendre, P., and Peres-Neto, P.R. (2006). Spatial modelling: a comprehensive framework for principal coordinate analysis of neighbour matrices (PCNM). *Ecol. Model.* 196, 483–493.
- Drinkwater, K.F., Miles, M., Medhaug, I., Otterå, O.H., Kristiansen, T., Sundby, S., and Gao, Y. (2014). The Atlantic Multidecadal Oscillation: Its manifestations and impacts with special emphasis on the Atlantic region north of 60°N. *J. Mar. Syst.* 133, 117–130.
- Dufrêne, M., and Legendre, P. (1997). Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.* 67, 345–366.
- Dunn, O.J. (1964). Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics* 6, 241–252.
- Dupont, J.P., Lafite, R., Huault, M.F., Dupeuble, P.A., Brylinski, J.M., Guegueniat, P., Lamboy, M., and Cabioch, L. (1991). La dynamique des masses d’eaux et des matières en suspension en Manche Orientale. *Oceanol. Acta Spec. Issue*.
- Eastwood, P.D., Meaden, G.J., and Grieco, A. (2001). Modelling spatial variations in spawning habitat suitability for the sole *Solea solea* using regression quantiles and GIS procedures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 224, 251–266.
- Edwards, M., Beaugrand, G., Helaouët, P., Alheit, J., and Coombs, S. (2013). Marine Ecosystem Response to the Atlantic Multidecadal Oscillation. *PLOS ONE* 8, e57212.
- Ehrlich, K.F. (1974a). Chemical Changes during Growth and Starvation of Herring Larvae. In *The Early Life History of Fish*, J.H.S.B.M.A. Sc D., ed. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 301–323.
- Ehrlich, K.F. (1974b). Chemical changes during growth and starvation of larval *Pleuronectes platessa*. *Mar. Biol.* 24, 39–48.
- Enfield, D.B., Mestas-Núñez, A.M., and Trimble, P.J. (2001). The Atlantic Multidecadal Oscillation and its relation to rainfall and river flows in the continental U.S. *Geophys. Res. Lett.* 28, 2077–2080.
- Fernández-Díaz, C., Yýfera, M., Cañavate, J.P., Moyano, F.J., Alarcón, F.J., and Díaz, M. (2001). Growth and physiological changes during metamorphosis of Senegal sole reared in the laboratory. *J. Fish Biol.* 58, 1086–1097.
- Ferron, A., and Leggett, W.C. (1994). An Appraisal of Condition Measures for Marine Fish Larvae*. In *Advances in Marine Biology*, J.H.S.B. and A.J. Southward, ed. (Academic Press), pp. 217–303.
- Folch, J., Lees, M., and Sloane Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497–509.

- Foley, C.J., Bradley, D.L., and Höök, T.O. (2016). A review and assessment of the potential use of RNA:DNA ratios to assess the condition of entrained fish larvae. *Ecol. Indic.* 60, 346–357.
- Folkvord, A., Ystanes, L., Johannessen, A., and Moksness, E. (1996). RNA:DNA ratios and growth of herring (*Clupea harengus*) larvae reared in mesocosms. *Mar. Biol.* 126, 591–602.
- Fonds, M. (1979). Laboratory observations on the influence of temperature and salinity on development of the eggs and growth of the larvae of *Solea solea*. *Mar Ecol Prog Ser* 1, 91–99.
- Fonds, M., Cronie, R., Vethaak, A.D., and Van Der Puyl, P. (1992). Metabolism, food consumption and growth of plaice (*Pleuronectes platessa*) and flounder (*Platichthys flesus*) in relation to fish size and temperature. *Neth. J. Sea Res.* 29, 127–143.
- Fox, C.J., Taylor, M., Dickey-Collas, M., Damme, V., G, C.J., Bolle, L.J., Daan, N., Rohlf, N., Kraus, G., Munk, P., et al. (2005). Initial results from the 2004 ichthyoplankton survey of the North Sea (ICES).
- Frank, K.T., and Leggett, W.C. (1981). Wind Regulation of Emergence Times and Early Larval Survival in Capelin (*Mallotus villosus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 38, 215–223.
- Frank, K.T., and Leggett, W.C. (1982). Environmental Regulation of Growth Rate, Efficiency, and Swimming Performance in Larval Capelin (*Mallotus villosus*), and its Application to the Match/Mismatch Hypothesis. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 39, 691–699.
- Fraser, A.J. (1989). Triacylglycerol content as a condition index for fish, bivalve, and crustacean larvae. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 46, 1868–1873.
- Fraser, A.J., Gamble, J.C., and Sargent, J.R. (1988). Changes in lipid content, lipid class composition and fatty acid composition of developing eggs and unfed larvae of cod (*Gadus morhua*). *Mar. Biol.* 99, 307–313.
- Frolov, A.V., and Pankov, S.L. (1992). The effect of starvation on the biochemical composition of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 72, 343–356.
- Frommel, A.Y., Maneja, R., Lowe, D., Pascoe, C.K., Geffen, A.J., Folkvord, A., Piatkowski, U., and Clemmesen, C. (2014). Organ damage in Atlantic herring larvae as a result of ocean acidification. *Ecol. Appl.* 24, 1131–1143.
- García Hernández, M.P., Lozano, M.T., Elbal, M.T., and Agulleiro, B. (2001). Development of the digestive tract of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L). Light and electron microscopic studies. *Anat. Embryol. (Berl.)* 204, 39–57.
- Garrido, S., Ben-Hamadou, R., Santos, A.M.P., Ferreira, S., Teodósio, M.A., Cotano, U., Irigoien, X., Peck, M.A., Saiz, E., and Ré, P. (2015). Born small, die young: Intrinsic, size-selective mortality in marine larval fish. *Sci. Rep.* 5, 17065.
- Geffen, A.J., van der Veer, H.W., and Nash, R.D.M. (2007). The cost of metamorphosis in flatfishes. *J. Sea Res.* 58, 35–45.
- Gibb, F., Wright, P., Gibb, I., and O'Sullivan, M. (2004). Haddock and whiting spawning areas in the North Sea and Scottish west coast. *Fish. Res. Serv. Fish. Res. Serv.* 11, 04–11.
- Gibson, R.N. (1997). Behaviour and the distribution of flatfishes. *J. Sea Res.* 37, 241–256.
- Gibson, R.N., Nash, R.D., Geffen, A.J., and Van der Veer, H.W. (2014). Flatfishes: biology and exploitation (John Wiley & Sons).
- Giraldo, C. (2012). Ecologie trophique du poisson *Pleuragramma antarcticum* dans l'Est Antarctique (Paris 6).

- Giraldo, C., Cherel, Y., Vallet, C., Mayzaud, P., Tavernier, E., Moteki, M., Hosie, G., and Koubbi, P. (2011). Ontogenic changes in the feeding ecology of the early life stages of the Antarctic silverfish (*Pleuragramma antarcticum*) documented by stable isotopes and diet analysis in the Dumont d'Urville Sea (East Antarctica). *Polar Sci.* 5, 252–263.
- Giraldo, C., Mayzaud, P., Tavernier, E., Irisson, J.-O., Penot, F., Becciu, J., Chartier, A., Boutoute, M., and Koubbi, P. (2012). Lipid components as a measure of nutritional condition in fish larvae (*Pleuragramma antarcticum*) in East Antarctica. *Mar. Biol.* 160, 877–887.
- Giraldo, C., Boutoute, M., Mayzaud, P., Tavernier, E., Quang, A.V., and Koubbi, P. (2016). Lipid dynamics in early life stages of the icefish *Chionodraco hamatus* in the Dumont d'Urville Sea (East Antarctica). *Polar Biol.* 1–8.
- Gisbert, E., Piedrahita, R.H., and Conklin, D.E. (2004a). Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices. *Aquaculture* 232, 455–470.
- Gisbert, E., Conklin, D.B., and Piedrahita, R.H. (2004b). Effects of delayed first feeding on the nutritional condition and mortality of California halibut larvae. *J. Fish Biol.* 64, 116–132.
- Gisbert, E., Ortiz-Delgado, J.B., and Sarasquete, C. (2008). Nutritional cellular biomarkers in early life stages of fish. *Histol. Histopathol.*
- Gorsky, G., Ohman, M.D., Picheral, M., Gasparini, S., Stemmann, L., Romagnan, J.-B., Cawood, A., Pesant, S., García-Comas, C., and Prejger, F. (2010). Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system. *J. Plankton Res.* 32, 285–303.
- Govoni, J.J. (2005). Fisheries oceanography and the ecology of early life histories of fishes: a perspective over fifty years. *Sci. Mar.* 69, 125–137.
- Govoni, J.J., Boehlert, G.W., and Watanabe, Y. (1986). The physiology of digestion in fish larvae. In *Contemporary Studies on Fish Feeding: The Proceedings of GUTSHOP '84: Papers from the Fourth Workshop on Fish Food Habits Held at the Asilomar Conference Center, Pacific Grove, California, U.S.A., December 2–6, 1984*, C.A. Simenstad, and G.M. Cailliet, eds. (Dordrecht: Springer Netherlands), pp. 59–78.
- Green, B.S., and McCornick, M.I. (1999). Influence of larval feeding history on the body condition of *Amphiprion melanopus*. *J. Fish Biol.* 55, 1273–1289.
- Grioche, A. (1998). Dynamique de l'ecophase ichthyoplanctonique en manche orientale et sud mer du nord. Approche multispecifique et description de deux especes cibles: *Solea solea* (l.) et *Pleuronectes flesus* (l.). (Littoral), p.
- Grioche, A., and Koubbi, P. (1997). A preliminary study of the influence of a coastal frontal structure on ichthyoplankton assemblages in the English Channel. *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* 54, 93–104.
- Grioche, A., Koubbi, P., and Harlay, X. (1999). Spatial Patterns of Ichthyoplankton Assemblages Along the Eastern English Channel French Coast during Spring 1995. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 49, 141–152.
- Grioche, A., Harlay, X., Koubbi, P., and Lago, L.F. (2000). Vertical migrations of fish larvae: Eulerian and Lagrangian observations in the Eastern English Channel. *J. Plankton Res.* 22, 1813–1828.
- Grioche, A., Koubbi, P., Harlay, X., and Sautour, B. (2001). Sole larval distribution (*Solea solea*) in the eastern English Channel and Southern Bight of the North Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 81, 673–678.
- Groß, J. (2003). Variance inflation factors. *R News* 3, 13–15.
- Gushing, D., and Dickson, R. (1977). The biological response in the sea to climatic changes. In *Advances in Marine Biology*, (Elsevier), pp. 1–122.

- Gwak, W.S., Tsusaki, T., and Tanaka, M. (2003). Nutritional condition, as evaluated by RNA/DNA ratios, of hatchery-reared Japanese flounder from hatch to release. *Aquaculture* 219, 503–514.
- Håkanson, J.L. (1989). Analysis of lipid components for determining the condition of anchovy larvae, *Engraulis mordax*. *Mar. Biol.* 102, 143–151.
- Harden Jones, F.R. (1968). Fish migration.
- Hare, J.A., and Cowen, R.K. (1997). Size, Growth, Development, and Survival of the Planktonic Larvae of *Pomatomus Saltatrix* (pisces: Pomatomidae). *Ecology* 78, 2415–2431.
- Harlay, X. (2001). Influence de l'hydrodynamisme, en Manche orientale, sur la qualité trophique du milieu, la croissance et la survie des larves d'un poisson plat, le flet (*Pleuronectes flesus* L.).
- Haslob, H., Hauss, H., Hinrichsen, H.H., Voss, R., Böttcher, U., and Kraus, G. (2012). Application of the daily egg production method to Baltic sprat. *Fish. Res.* 127–128, 73–82.
- Hátún, H., Payne, M.R., Beaugrand, G., Reid, P.C., Sandø, A.B., Drange, H., Hansen, B., Jacobsen, J.A., and Bloch, D. (2009). Large bio-geographical shifts in the north-eastern Atlantic Ocean: From the subpolar gyre, via plankton, to blue whiting and pilot whales. *Prog. Oceanogr.* 80, 149–162.
- Hawkins, S., Firth, L., McHugh, M., Poloczanska, E., Herbert, R., Burrows, M., Kendall, M., Moore, P.J., Thompson, R., and Jenkins, S. (2013). Data rescue and re-use: recycling old information to address new policy concerns. *Mar. Policy* 42, 91–98.
- Heath, M., Scott, B., and Bryant, A.D. (1997). Modelling the growth of herring from four different stocks in the North Sea. *J. Sea Res.* 38, 413–436.
- Hewitt, R., Theilacker, G., and Lo, N. (1985). Causes of mortality in young jack mackerel. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 26, 1–10.
- Hislop, J.R.G. (1975). The breeding and growth of whiting, *Merlangius merlangus* in captivity. *J. Cons.* 36, 119–127.
- Hjort, J. (1914). Fluctuations in the great fisheries of Northern Europe viewed in the light of biological research.
- Hjort, J. (1926). Fluctuations in the year classes of important food fishes. *ICES J. Mar. Sci.* 1, 5–38.
- Hoehne-Reitan, K., and Kjorsvik, E. (2004). Functional development of the liver and exocrine pancreas in teleost fish. (American Fisheries Society), pp. 9–36.
- Holling, C.S. (1966). The functional response of invertebrate predators to prey density. *Mem. Entomol. Soc. Can.* 98, 5–86.
- Houde, E.D. (1997). Patterns and trends in larval-stage growth and mortality of teleost fish*. *J. Fish Biol.* 51, 52–83.
- Houde, E.D. (2008). Emerging from Hjort's Shadow. *J. Northwest Atl. Fish. Sci.* 41, 53–70.
- Houde, E., and Hoyt, R. (1987). Fish early life dynamics and recruitment variability. *Trans Am Fish Soc.*
- Houghton, R.G., and Harding, D. (1976). The plaice of the English Channel: spawning and migration. *J. Cons.* 36, 229–239.
- Hovenkamp, F. (1992). Growth-dependent mortality of larval plaice *Pleuronectes platessa* in the North Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 82, 95–101.

- Hufnagl, M., Peck, M.A., Nash, R.D.M., Pohlmann, T., and Rijnsdorp, A.D. (2013). Changes in potential North Sea spawning grounds of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) based on early life stage connectivity to nursery habitats. *J. Sea Res.* 84, 26–39.
- Hufnagl, M., Peck, M.A., Nash, R.D.M., and Dickey-Collas, M. (2015). Unravelling the Gordian knot! Key processes impacting overwintering larval survival and growth: A North Sea herring case study. *Prog. Oceanogr.* 138, 486–503.
- Hunter, J.R. (1976). Report of a Colloquium on Larval Fish Mortality Studies and their Relation to Fishery Research, January 1975. (National Marine Fisheries Service), p.
- Hunter, J.R. (1980). The feeding behavior and ecology of marine fish larvae. pp. 287–330.
- Hunter, J.R. (1981). Feeding Ecology and Predation of Marine Fish Larvae. R Lasker Ed 1, 34–77.
- ICES. (2018). Report of the Herring Assessment Working Group for the Area South of 62°N (HAWG). 29-31 January 2018 and 12-20 March 2018. ICES HQ, Copenhagen, Denmark. ICES CM 2018/ACOM:07. 960 pp
- Iles, T.D., and Sinclair, M. (1982). Atlantic Herring: Stock Discreteness and Abundance. *Science* 215, 627–633.
- James, G., Witten, D., Hastie, T., and Tibshirani, R. (2013). An Introduction to Statistical Learning: with Applications in R (New York: Springer-Verlag).
- Jansen, T., and Gislason, H. (2011). Temperature affects the timing of spawning and migration of North Sea mackerel. *Cont. Shelf Res.* 31, 64–72.
- John, M.A.S., Clemmesen, C., Lund, T., and Köster, T. (2001). Diatom production in the marine environment: implications for larval fish growth and condition. *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* 58, 1106–1113.
- Johns, D., and Howell, W. (1980). Yolk Utilization in Summer Flounder (*Paralichthys dentatus*) Embryos and Larvae Reared at Two Temperatures. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 2, 1–8.
- Karasiewicz, S., Dolédec, S., and Lefebvre, S. (2017). Within outlying mean indexes: refining the OMI analysis for the realized niche decomposition. *PeerJ* 5.
- Kashuba, S.A., and Matthews, W.J. (1984). Physical Condition of Larval Shad during Spring-Summer in a Southwestern Reservoir. *Trans. Am. Fish. Soc.* 113, 199–204.
- Kauker, F., and von Storch, H. (2000). Statistics of “Synoptic Circulation Weather” in the North Sea as Derived from a Multiannual OGCM Simulation. *J. Phys. Oceanogr.* 30, 3039–3049.
- Keefe, M., and Able, K.W. (1993). Patterns of metamorphosis in summer flounder, *Paralichthys dentatus*. *J. Fish Biol.* 42, 713–728.
- Kenny, A.J., Skjoldal, H.R., Engelhard, G.H., Kershaw, P.J., and Reid, J.B. (2009). An integrated approach for assessing the relative significance of human pressures and environmental forcing on the status of Large Marine Ecosystems. *Prog. Oceanogr.* 81, 132–148.
- Kjørsvik, E., Meeren, T., Kryvi, H., Arnfinnson, J., and Kvenseth, P.G. (1991). Early development of the digestive tract of cod larvae, *Gadus morhua* L., during start-feeding and starvation. *J. Fish Biol.* 38, 1–15.
- Koubbi, P., Loots, C., Cotonnec, G., Harlay, X., Griocche, A., Vaz, S., Martin, C.C.C.U., Walkey, M., and Carpentier, A. (2006). Spatial patterns and GIS habitat modelling of *Solea solea*, *Pleuronectes flesus* and *Limanda limanda* fish larvae in the eastern English Channel during the spring. *Sci. Mar.* 147–157.

- Koubbi, P., Vallet, C., Razouls, S., Griocche, A., Hilde, D., Courcot, L., Janquin, M.A., and Vacchi, M. (2007). Condition and diet of larval *Pleuragramma antarcticum* (Nototheniidae) from Terre Adélie (Antarctica) during summer. *Cybiurn* 31, 67–76.
- Koumoundouros, G., Divanach, P., Anezaki, L., and Kentouri, M. (2001). Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Mar. Biol.* 139, 817–830.
- Koutsikopoulos, C., and Herbland, A. (1987). The stability of the spatial distribution of the pelagic stages of sole as explained by the trajectories of 'Argos' satellite tracked buoys. ICES CM.
- Lagardère, F., Amara, R., and Joassard, L. (1999). Vertical distribution and feeding activity of metamorphosing sole, *Solea solea*, before immigration to the Bay of Vilaine nursery (northern Bay of Biscay, France). In *When Do Fishes Become Juveniles?*, G.H. Copp, V. Kováč, and K. Hensel, eds. (Dordrecht: Springer Netherlands), pp. 213–228.
- Lasker, R. (1978). The relation between oceanographic conditions and larval anchovy food in the California Current: identification of factors contributing to recruitment failure. *Rapp P-V Reun Cons Int Explor Mer* 173, 212–230.
- Le Pape, O.L., and Bonhommeau, S. (2015). The food limitation hypothesis for juvenile marine fish. *Fish Fish.* 16, 373–398.
- Legendre, P., and Legendre, L.F.J. (2012). *Numerical Ecology* (Elsevier).
- Leggett, W.C., and Deblois, E. (1994). Recruitment in marine fishes: Is it regulated by starvation and predation in the egg and larval stages? *Neth. J. Sea Res.* 32, 119–134.
- Leis, J. (1991). Vertical distribution of fish larvae in the Great Barrier Reef Lagoon, Australia. *Mar. Biol.* 109, 157–166.
- Levin, P.S., and Stunz, G.W. (2005). Habitat triage for exploited fishes: Can we identify essential "Essential Fish Habitat?" *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 64, 70–78.
- Loots, C., Vaz, S., Planque, B., and Koubbi, P. (2010). What controls the spatial distribution of the North Sea plaice spawning population? Confronting ecological hypotheses through a model selection framework. *ICES J. Mar. Sci.* 67, 244–257.
- Loots, C., Vaz, S., Planque, B., and Koubbi, P. (2011). Understanding what controls the spawning distribution of North Sea whiting (*Merlangius merlangus*) using a multi-model approach. *Fish. Oceanogr.* 20, 18–31.
- Love, R.M. (1970). *The chemical biology of fishes. With a key to the chemical literature.* Chem. Biol. Fishes Key Chem. Lit.
- MacKenzie, B., and Leggett, W. (1991). Quantifying the contribution of small-scale turbulence to the encounter rates between larval fish and their zooplankton prey: effects of wind and tide. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 73, 149–160.
- MacKenzie, B.R., and Kiørboe, T. (1995). Encounter rates and swimming behavior of pause-travel and cruise larval fish predators in calm and turbulent laboratory environments. *Limnol. Oceanogr.* 40, 1278–1289.
- Maneja, R., Frommel, A., Geffen, A., Folkvord, A., Piatkowski, U., Chang, M., and Clemmesen, C. (2013). Effects of ocean acidification on the calcification of otoliths of larval Atlantic cod *Gadus morhua*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 477, 251–258.
- Marchand, J. (1991). The influence of environmental conditions on settlement, distribution and growth of 0-group sole (*Solea solea* (L.)) in a macrotidal estuary (Vilaine, France). *Neth. J. Sea Res.* 27, 307–316.

- Margulies, D. (1993). Assessment of the nutritional condition of larval and early juvenile tuna and Spanish mackerel (Pisces: Scombridae) in the Panamá Bight. *Mar. Biol.* 115, 317–330.
- Martoja, R., and Martoja-Pierson, M. (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale.
- Maucorps, A. (1969). Biologie et pêche du hareng en mer du nord, son exploitation rationnelle. *Sci. Pêche* 186, 1–8.
- May, R.C. (1974). Larval Mortality in Marine Fishes and the Critical Period Concept. In *The Early Life History of Fish*, J.H.S.B.M.A. Sc D., ed. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 3–19.
- McFadzen, I.R.B., Coombs, S.H., and Halliday, N.C. (1997). Histological indices of the nutritional condition of sardine, *Sardina pilchardus* (Walbaum) larvae off the north coast of Spain. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 212, 239–258.
- McGurk, M., Paul, A., Coyle, K., Ziemann, D., and Haldorson, L. (1993). Relationships between prey concentration and growth, condition, and mortality of Pacific herring, *Clupea pallasii*, larvae in an Alaskan subarctic embayment. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 50, 163–180.
- McLean, M., Mouillot, D., Lindegren, M., Engelhard, G., Villéger, S., Marchal, P., Brind'Amour, A., and Auber, A. (2018a). A Climate-Driven Functional Inversion of Connected Marine Ecosystems. *Curr. Biol.* 28, 3654–3660.e3.
- McLean, M.J., Mouillot, D., Goascoz, N., Schlaich, I., and Auber, A. (2018b). Functional reorganization of marine fish nurseries under climate warming. *Glob. Change Biol.* 0.
- Methot, R., and Kramer, D. (1979). Growth of northern anchovy, *Engraulis mordax*, and northern lampfish, *Stenobranchius leucopsarus*. *Rapp Pv Reun Cons Int Explor Mer* 78, 424–431.
- Meyer, S., Caldarone, E.M., Chícharo, M.A., Clemmesen, C., Faria, A.M., Faulk, C., Folkvord, A., Holt, G.J., Høie, H., Kanstinger, P., et al. (2012). On the edge of death: Rates of decline and lower thresholds of biochemical condition in food-deprived fish larvae and juveniles. *J. Mar. Syst.* 93, 11–24.
- Miller, T. (2007). Contribution of individual-based coupled physical–biological models to understanding recruitment in marine fish populations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 347, 127–138.
- Miller, B., and Kendall, A.W. (2009). *Early Life History of Marine Fishes* (University of California Press).
- Miller, J.K., and Farr, S.D. (1971). Bimultivariate Redundancy: A Comprehensive Measure of Interbattery Relationship. *Multivar. Behav. Res.* 6, 313–324.
- Miller, T.J., Crowder, L.B., Rice, J.A., and Marschall, E.A. (1988). Larval Size and Recruitment Mechanisms in Fishes: Toward a Conceptual Framework. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 45, 1657–1670.
- Millward, D., Garlick, P., James, W., Nnanyelugo, D., and Ryatt, J. (1973). Relationship between protein synthesis and RNA content in skeletal muscle. *Nature* 241, 204.
- Montero-Serra, I., Edwards, M., and Genner, M.J. (2015). Warming shelf seas drive the subtropicalization of European pelagic fish communities. *Glob. Change Biol.* 21, 144–153.
- Mood, A.M. (1971). Partitioning variance in multiple regression analyses as a tool for developing learning models. *Am. Educ. Res. J.* 8, 191–202.
- Moser, H.G. (1984). Ontogeny and systematics of fishes. *Amer Soc Ichthyol Herpetol Spec Pub* 760.
- Munday, P.L., Donelson, J.M., Dixon, D.L., and Endo, G.G.K. (2009). Effects of ocean acidification on the early life history of a tropical marine fish. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 276, 3275–3283.
- Munk, P. (2005). Eggs and larvae of North Sea fishes (Biofolia).

- Nash, R.D.M., and Dickey-Collas, M. (2005). The influence of life history dynamics and environment on the determination of year class strength in North Sea herring (*Clupea harengus* L.). *Fish. Oceanogr.* 14, 279–291.
- Nash, R.D.M., and Geffen, A.J. (2000). The influence of nursery ground processes in the determination of year-class strength in juvenile plaice *Pleuronectes platessa* L. in Port Erin Bay, Irish Sea. *J. Sea Res.* 44, 101–110.
- Nash, R.D.M., Geffen, A.J., Burrows, M.T., and Gibson, R.N. (2007). Dynamics of shallow-water juvenile flatfish nursery grounds: application of the self-thinning rule. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 344, 231–244.
- Nunn, A.D., Tewson, L.H., and Cowx, I.G. (2011). The foraging ecology of larval and juvenile fishes. *Rev. Fish Biol. Fish.* 22, 377–408.
- Nye, J.A., Baker, M.R., Bell, R., Kenny, A., Kilbourne, K.H., Friedland, K.D., Martino, E., Stachura, M.M., Van Houtan, K.S., and Wood, R. (2014). Ecosystem effects of the Atlantic Multidecadal Oscillation. *J. Mar. Syst.* 133, 103–116.
- O’Connell, C.P. (1976). Histological criteria for diagnosing the starving condition in early post yolk sac larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax* Girard. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 25, 285–312.
- O’Connell, C.P. (1980). Percentage of starving northern anchovy, *Engraulis mordax*, larvae in the sea as estimated by histological methods. *Fish Bull* 78, 475–489.
- O’Connell, C.P. (1981). Histochemical indications of liver glycogen in samples of emaciated and robust larvae of the northern anchovy, *Engraulis mordax*. *Fish Bull* 78, 806–812.
- O’Connell, C.P. (1981). Estimation by histological methods of the percent of starving larvae of the northern anchovy (*Engraulis mordax*) in the sea. *Rapp PV Reun Cons Int Explor Mer* 178, 357–360.
- Oksanen, J., Blanchet, G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P., O’Hara, R., Simpson, G., Solymos, P., Eduard Szoecs, H. and Wagner, H. (2019). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-6.
- Olsen, R.E., Myklebust, R., Ringø, E., and Mayhew, T.M. (2000). The influences of dietary linseed oil and saturated fatty acids on caecal enterocytes in Arctic char (*Salvelinus alpinus* L.): a quantitative ultrastructural study. *Fish Physiol. Biochem.* 22, 207–216.
- Oozeki, Y., Ishii, T., and Hirano, R. (1989). Histological study of the effects of starvation on reared and wild-caught larval stone flounder, *Kareius bicoloratus*. *Mar. Biol.* 100, 269–275.
- Orr, J.C., Fabry, V.J., Aumont, O., Bopp, L., Doney, S.C., Feely, R.A., Gnanadesikan, A., Gruber, N., Ishida, A., Joos, F., et al. (2005). Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437, 681–686.
- Otterlei, E., Nyhammer, G., Folkvord, A., and Stefansson, S.O. (1999). Temperature- and size-dependent growth of larval and early juvenile Atlantic cod (*Gadus morhua*): a comparative study of Norwegian coastal cod and northeast Arctic cod. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 56, 2099–2111.
- Paradis, E., and Schliep K. (2018). *ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R*. *Bioinformatics* 35: 526–528.
- Patt, D.I., and Patt, G.R. (1969). *Comparative vertebrate histology*.
- Paul E Smith (1977). *Standard Techniques For Pelagic Fish Egg And Larva Surveys* Fao Fisheries Technical Paper No 175 (Food And Agriculture Organization Of The United Nations).
- Pearcy, W.G. (1962). Ecology of an estuarine population of winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum). (New Haven).

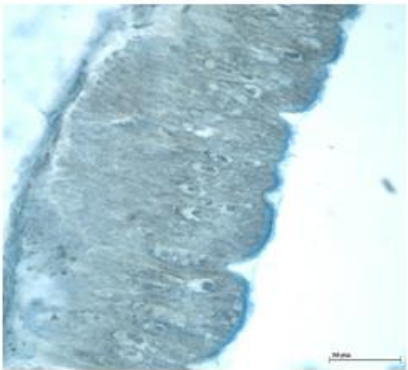
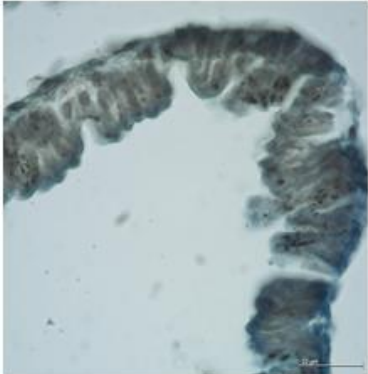
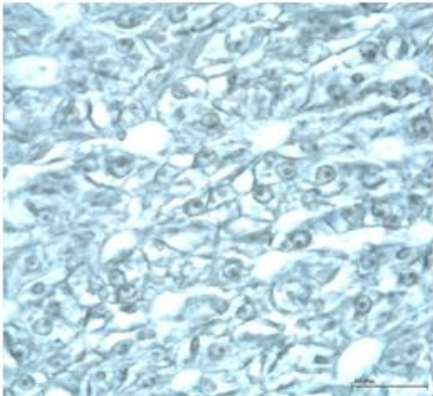
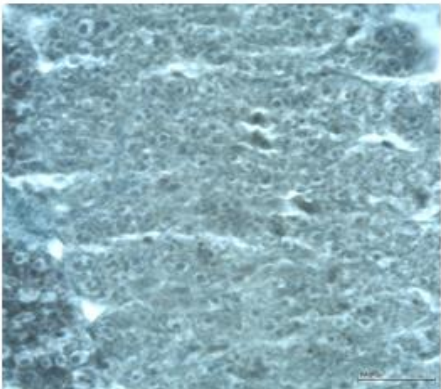
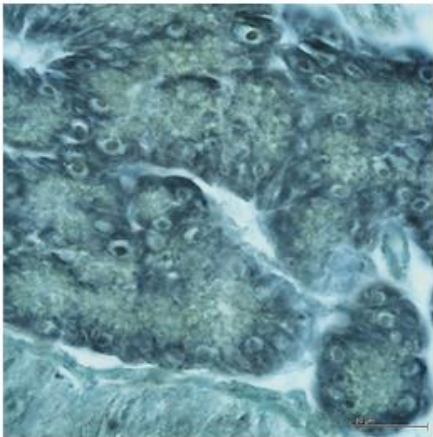
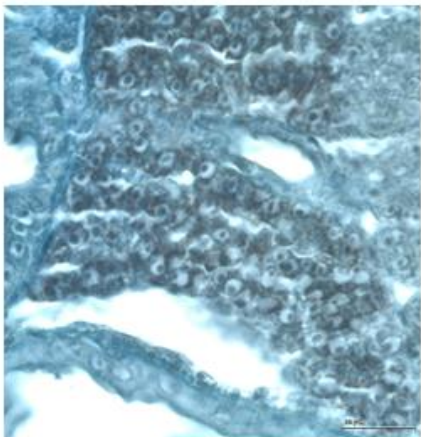
- Peck, M.A., Huebert, K.B., and Llopiz, J.K. (2012). Chapter 3 - Intrinsic and Extrinsic Factors Driving Match–Mismatch Dynamics During the Early Life History of Marine Fishes. In *Advances in Ecological Research*, G. Woodward, U. Jacob, and E.J. O’Gorman, eds. (Academic Press), pp. 177–302.
- Pedersen, B.H., Nilssen, E.M., and Hjelmeland, K. (1987). Variations in the content of trypsin and trypsinogen in larval herring (*Clupea harengus*) digesting copepod nauplii. *Mar. Biol.* **94**, 171–181.
- Pepin, P. (1991). Effect of Temperature and Size on Development, Mortality, and Survival Rates of the Pelagic Early Life History Stages of Marine Fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **48**, 503–518.
- Pepin, P. (2016). Death from near and far: alternate perspectives on size-dependent mortality in larval fish. *ICES J. Mar. Sci.* **73**, 196–203.
- Pepin, P., and Myers, R.A. (1991). Significance of Egg and Larval Size to Recruitment Variability of Temperate Marine Fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **48**, 1820–1828.
- Pepin, P., Pearre jr., S., and Koslow, J.A. (1987). Predation on Larval Fish by Atlantic Mackerel *Scomber scombrus*, with a Comparison of Predation by Zooplankton. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **44**, 2012–2018.
- Pepin, P., Orr, D.C., and Anderson, J.T. (1997). Time to hatch and larval size in relation to temperature and egg size in Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **54**, 2–10.
- Peres-Neto, P.R., Legendre, P., Dray, S., and Borcard, D. (2006). Variation Partitioning of Species Data Matrices: Estimation and Comparison of Fractions. *Ecology* **87**, 2614–2625.
- Peters, J., Diekmann, R., Clemmesen, C., and Hagen, W. (2015). Lipids as a proxy for larval starvation and feeding condition in small pelagic fish: a field approach on match-mismatch effects on Baltic sprat. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **531**, 277–292.
- Petitgas, P., Rijnsdorp, A.D., Dickey-Collas, M., Engelhard, G.H., Peck, M.A., Pinnegar, J.K., Drinkwater, K., Huret, M., and Nash, R.D.M. (2013). Impacts of climate change on the complex life cycles of fish. *Fish. Oceanogr.* **22**, 121–139.
- Planque, B., and Fromentin, J. (1996). Calanus and environment in the eastern North Atlantic. I. Spatial and temporal patterns of *C. finmarchicus* and *C. helgolandicus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **134**, 101–109.
- Purcell, J.E., Siferd, T.D., and Marliave, J.B. (1987). Vulnerability of larval herring (*Clupea harengus pallasii*) to capture by the jellyfish *Aequorea victoria*. *Mar. Biol.* **94**, 157–162.
- Rainuzzo, J.R., Reitan, K.I., and Olsen, Y. (1997). The significance of lipids at early stages of marine fish: a review. *Aquaculture* **155**, 103–115.
- Reid, P.C., Borges, M. de F., and Svendsen, E. (2001). A regime shift in the North Sea circa 1988 linked to changes in the North Sea horse mackerel fishery. *Fish. Res.* **50**, 163–171.
- Riley, J.D. (1966). Marine Fish Culture in Britain VII. Plaice (*Pleuronectes platessa* L.) Post-larval Feeding on *Artemia salina* L. Nauplii and the Effects of Varying Feeding Levels. *ICES J. Mar. Sci.* **30**, 204–221.
- Riley, J.D. (1974). The Distribution and Mortality of Sole Eggs [*Solea solea* (L.)] in Inshore Areas. In *The Early Life History of Fish*, J.H.S.B.M.A. Sc D., ed. (Springer Berlin Heidelberg), pp. 39–52.
- Roberts, D. (2019). labdsv: Ordination and Multivariate Analysis for Ecology. R package version 2.0-1.
- Rochette, S., Rivot, E., Morin, J., Mackinson, S., Riou, P., and Le Pape, O. (2010). Effect of nursery habitat degradation on flatfish population: Application to *Solea solea* in the Eastern Channel (Western Europe). *J. Sea Res.* **64**, 34–44.

- Rodríguez, A., Gisbert, E., and Castelló-Orvay, F. (2005). Nutritional condition of *Anguilla anguilla* starved at various salinities during the elver phase. *J. Fish Biol.* 67, 521–534.
- Rønnestad, I., Yúfera, M., Ueberschär, B., Ribeiro, L., Sæle, Ø., and Boglione, C. (2013). Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps and bottlenecks in research. *Rev. Aquac.* 5, S59–S98.
- Rooker, J.R., and Holt, G.J. (1996). Application of RNA: DNA ratios to evaluate the condition and growth of larval and juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*). *Mar. Freshw. Res.* 47, 283–290.
- Rosenberg, A.A., and Haugen, A.S. (1982). Individual growth and size-selective mortality of larval turbot (*Scophthalmus maximus*) reared in enclosures. *Mar. Biol.* 72, 73–77.
- Rosenthal, H., and Alderdice, D. (1976). Sublethal effects of environmental stressors, natural and pollutional, on marine fish eggs and larvae. *J. Fish Res Board Can* 33, 2047–2065.
- Russell, F.S. (1935). On the Value of Certain Plankton Animals as Indicators of Water Movements in the English Channel and North Sea. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 20, 309–332.
- Russell, F.S. (1976). The eggs and planktonic stages of British marine fishes.
- Russell, F.S., Southward, A.J., Boalch, G.T., and Butler, E.I. (1971). Changes in Biological Conditions in the English Channel off Plymouth during the Last Half Century. *Nature* 234, 468–470.
- Ryland, J.S. (1966). Observations on the Development of Larvae of the Plaice, *Pleuronectes platessa* L., in Aquaria. *J. Cons.* 30, 177–195.
- Sarasquete, M.C., Polo, A., and Yúfera, M. (1995). Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquaculture* 130, 79–92.
- Sargent, J.R., and Whittle, K.J. (1981). Lipids and hydrocarbons in the marine food web.
- Schmoker, C., Russo, F., Drillet, G., Trottet, A., Mahjoub, M.-S., Hsiao, S.-H., Larsen, O., Tun, K., and Calbet, A. (2016). Effects of eutrophication on the planktonic food web dynamics of marine coastal ecosystems: The case study of two tropical inlets. *Mar. Environ. Res.* 119, 176–188.
- Sclafani, M., Stirling, G., and Leggett, W.C. (2000). Osmotic condition, buoyancy change and mortality in larval cod *Gadus morhua*. A bioassay for assessing near-term mortality. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 193, 157–166.
- Segner, H., and Moller, H. (1984). Electron microscopical investigations on starvation-induced liver pathology in flounders *Platichthys flesus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 19, 193–196.
- Segner, H., Burkhardt, P., Avila, E.M., Juario, J.V., and Storch, V. (1987). Nutrition-related histopathology of the intestine of milkfish *Chanos chanos* fry. *Dis. Aquat. Organ.* 2, 99–107.
- Segner, H., Storch, V., Reinecke, M., Kloas, W., and Hanke, W. (1994). The development of functional digestive and metabolic organs in turbot, *Scophthalmus maximus*. *Mar. Biol.* 119, 471–486.
- Selleslagh, J., and Amara, R. (2013). Effect of starvation on condition and growth of juvenile plaice *Pleuronectes platessa*: nursery habitat quality assessment during the settlement period. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 93, 479–488.
- Shelbourne, J.E. (1953). The Feeding Habits of Plaice Post-Larvae in the Southern Bight. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 32, 149–159.
- Shelbourne, J.E. (1957). The feeding and condition of plaice larvae in good and bad plankton patches. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 36, 539–552.

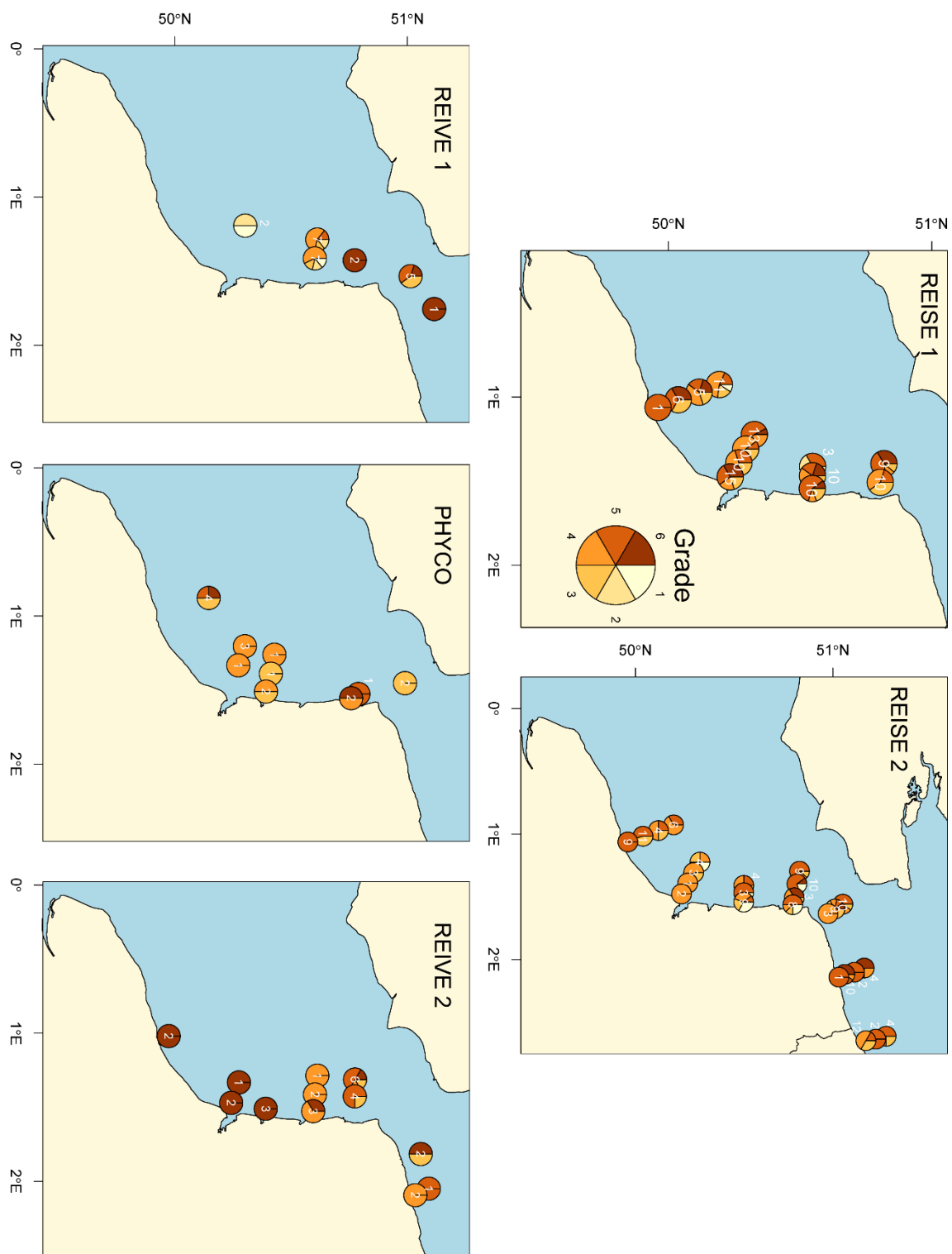
- Shepherd, J.G., and Cushing, D.H. (1980). A mechanism for density-dependent survival of larval fish as the basis of a stock-recruitment relationship. *ICES J. Mar. Sci.* 39, 160–167.
- Sieg, A. (1992). A histological study on the nutritional condition of larval and metamorphosing fishes of the genus *Vinciguerria* (Photichthyidae) sampled in two contrasting environments. *J. Appl. Ichthyol.* 8, 154–163.
- Sieg, A. (1998). A study on the histological classification of the in situ nutritional condition of larval south-west Atlantic anchovy, *Engraulis anchoita* Hubbs and Marini, 1935. *Oceanogr. Lit. Rev.* 9, 1693–1694.
- Silva, L., Moyano, M., Illing, B., Faria, A.M., Garrido, S., and Peck, M.A. (2015). Ontogeny of swimming capacity in plaice (*Pleuronectes platessa*) larvae. *Mar. Biol.* 162, 753–761.
- Sinclair, M., and Tremblay, M.J. (1984). Timing of Spawning of Atlantic Herring (*Clupea harengus harengus*) Populations and the Match–Mismatch Theory. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 41, 1055–1065.
- Somarakis, S., Tsoukali, S., Giannoulaki, M., Schismenou, E., and Nikolioudakis, N. (2017). Spawning stock, egg production and larval survival in relation to small pelagic fish recruitment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*
- Southward, A., Boalch, G., and Maddock, L. (1988). Fluctuations in the herring and pilchard fisheries of Devon and Cornwall linked to change in climate since the 16th century. *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 68, 423–445.
- Stiasny, M.H., Mittermayer, F.H., Sswat, M., Voss, R., Jutfelt, F., Chierici, M., Puvanendran, V., Mortensen, A., Reusch, T.B.H., and Clemmesen, C. (2016). Ocean Acidification Effects on Atlantic Cod Larval Survival and Recruitment to the Fished Population. *PLOS ONE* 11, e0155448.
- Suthers, I. (1992). The use of condition indices in larval fish. (Citeseer), p. 49.
- Takasuka, A., Aoki, I., and Oozeki, Y. (2007). Predator-specific growth-selective predation on larval Japanese anchovy *Engraulis japonicus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 350, 99–107.
- Theilacker, G. (1978). Effect of starvation on histological and morphological characteristics of jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, larvae. *Fish Bull* 76, 403–414.
- Theilacker, G. (1986). Starvation-induced mortality of young sea-caught jack mackerel, *Trachurus symmetricus*, determined with histological and morphological methods. *Fish Bull* 84, 17.
- Theilacker, G. (1995). Condition of larval walleye pollock *Theragra chalcogramma*, in the western Gulf of Alaska assessed with histological and shrinkage indices. *Fish Bull* 93, 333–344.
- Theilacker, G.H., and Watanabe, Y. (1989). Midgut Cell Height Defines Nutritional Status of Laboratory Raised Larval Northern Anchovy,. *Fish Bull* 87, 457–469.
- Thompson, B.M., Milligan, S., and Nichols, J. (1981). The development rates of sprat (*Sprattus sprattus* L.) eggs over a range of temperatures.
- Tibshirani, R., Walther, G., and Hastie, T. (2001). Estimating the number of clusters in a data set via the gap statistic. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Stat. Methodol.* 63, 411–423.
- Tocher, D.R. (2003). Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish. *Rev. Fish. Sci.* 11, 107–184.
- Tocher, D.R., and Sargent, J.R. (1984). Analyses of lipids and fatty acids in ripe roes of some Northwest European marine fish. *Lipids* 19, 492–499.
- Tocher, D.R., Fraser, A.J., Sargent, J.R., and Gamble, J.C. (1985). Lipid class composition during embryonic and early larval development in Atlantic herring (*Clupea harengus*, L.). *Lipids* 20, 84–89.

- Turrell, W.R. (1992). New hypotheses concerning the circulation of the northern North Sea and its relation to North Sea fish stock recruitment. *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* 49, 107–123.
- Umeda, S., and Ochiai, A. (1975). On the Histological Structure and Function of Digestive Organs of the Fed and Starved Larvae of the Yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. *Jpn. J. Ichthyol.* 21, 213–219.
- Van der Land, M.A. (1991). Distribution of flatfish eggs in the 1989 egg surveys in the southeastern North Sea, and mortality of plaice and sole eggs. *Neth. J. Sea Res.* 27, 277–286.
- Vaz, S., Carpentier, A., and Coppin, F. (2007). Eastern English Channel fish assemblages: measuring the structuring effect of habitats on distinct sub-communities. *ICES J. Mar. Sci.* 64, 271–287.
- Veer, H.W. van der, Freitas, V., Koot, J., Witte, J.I., and Zuur, A.F. (2010). Food limitation in epibenthic species in temperate intertidal systems in summer: analysis of 0-group plaice *Pleuronectes platessa*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 416, 215–227.
- van der Veer, H.W., and Witte, J.I.J. (1993). The “maximum growth/optimal food condition” hypothesis: a test for 0-group plaice *Pleuronectes platessa* in the Dutch Wadden Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 101, 81–90.
- van der Veer, H.W., Berghahn, R., Miller, J.M., and Rijnsdorp, A.D. (2000). Recruitment in flatfish, with special emphasis on North Atlantic species: Progress made by the Flatfish Symposia. *ICES J. Mar. Sci.* 57, 202–215.
- Von Dorrien, C., Hammer, C., Zimmermann, C., Stepputtis, D., Stuermer, I.W., Kotterba, P., and Polte, P. (2013). A Review on Herring, *Clupea harengus* (Actinopterygii: Clupeiformes: Clupeidae) Recruitment and Early Life Stage Ecology in the Western Baltic Sea. *Acta Ichthyol. Piscat.* 43, 169–182.
- Voss, R., Hinrichsen, H.-H., Stepputtis, D., Bernreuther, M., Huwer, B., Neumann, V., and Schmidt, J.O. (2011). Egg mortality: predation and hydrography in the central Baltic. *ICES J. Mar. Sci. J. Cons.* fsr061.
- Webster, R., and Oliver, M.A. (2007). *Geostatistics for environmental scientists* (John Wiley & Sons).
- Wennhage, H., and Gibson, R.N. (1998). Influence of food supply and a potential predator (*Crangon crangon*) on settling behaviour of plaice (*Pleuronectes platessa*). *J. Sea Res.* 39, 103–112.
- Woehrling, D., and Le Fèvre-Lehoërf, G. (1998). Long-term series in ichthyoplankton: sole and sprat at French coast of the North Sea from 1975 to 1994. *Oceanol. Acta* 21, 113–121.
- Yandi, I., and Altinok, I. (2015). Defining the starvation potential and the influence on RNA/DNA ratios in horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) larvae. *Helgol. Mar. Res.* 69, 25–35.
- Yandi, I., and Altinok, I. (2018). Irreversible starvation using RNA/DNA on lab-grown larval anchovy, *Engraulis encrasicolus*, and evaluating starvation in the field-caught larval cohort. *Fish. Res.* 201, 32–37.
- Yúfera, M., Pascual, E., Polo, A., and Sarasquete, M.C. (1993). Effect of starvation on the feeding ability of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae at first feeding. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 169, 259–272.
- Zambonino-Infante, M.F.L.J.L.Z., Gisbert, E., Sarasquete, C., Navarro, I., and Cahu, J.G. and C.L. (2008). Ontogeny and Physiology of the Digestive System of marine fish larvae. Feeding and digestive functions of fishes, 281–348.
- Zanden, M.J.V., Hulshof, M., Ridgway, M.S., and Rasmussen, J.B. (1998). Application of Stable Isotope Techniques to Trophic Studies of Age-0 Smallmouth Bass. *Trans. Am. Fish. Soc.* 127, 729–739.

Annexes

Bonne santé	Dégradé
Intestin	
	
Foie	
	
Pancréas	
	

Annexe 1 | Exemples de coupes histologiques des organes digestifs de larves de plies de stade 3 en bonne et mauvaise santé.



Annexe 2 | Proportions des grades histologiques de Boulhic (1991) aux stations échantillonnées durant les campagnes printanières de 1995 (REISEs) et 2017 (REIVEs et PHYCO).

Protocole d'histologie appliqué à l'étude de la condition des larves de poissons

Liste matériel

A. Machines

- Microtome rotatif
- Etuve
- Plaque chauffante

B. Verrerie

- Piluliers
- Béchers
- 20 cuves et portes lames

C. Consommables liquides

- Paraffine
- Bouin
- Alcool 70°
- Alcool 95°

- Alcool 100°

- Xylène
- solution d'alcool à 95° et 1% d'acide acétique
- Eau distillée
- Résine d'Eukitt
- Solution hematoxyline de Groat (*)
- Solution Picro-indigocarmin (*)
- Albumine glycinée 1%

D. Divers

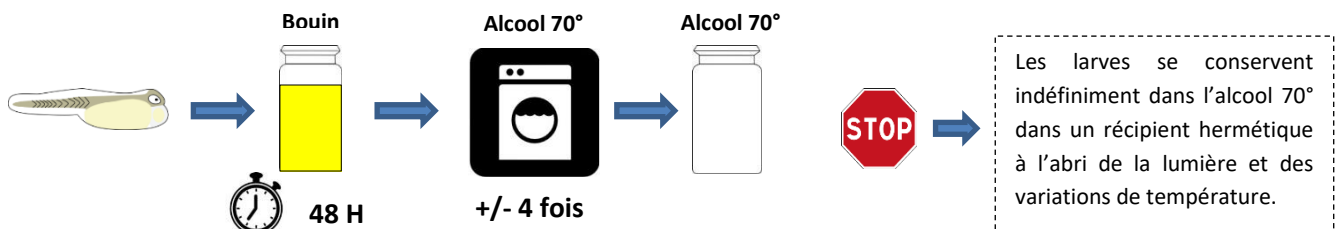
- Lames/lamelles
- Pinceaux
- Rasoirs
- Pincettes
- Papier absorbant
- Pose lame pour étuve
- Papier dessin noir
- Minuteur
- Barres de Leuckart OU
- Moules/cassettes à inclusion
- Lampe à alcool

Les préparations des solutions précédées d'une (*) sont détaillées partie : « Solutions »

Protocoles

I. Fixation

1. Les larves prélevées sont fixées en solution de Bouin dans un pilulier.
2. Après 48H d'exposition, rincer abondamment les larves avec de l'alcool à 70° jusqu'à ce que la solution reste claire.
3. Conserver les larves en alcool 70° dans un contenant hermétique pour stockage.



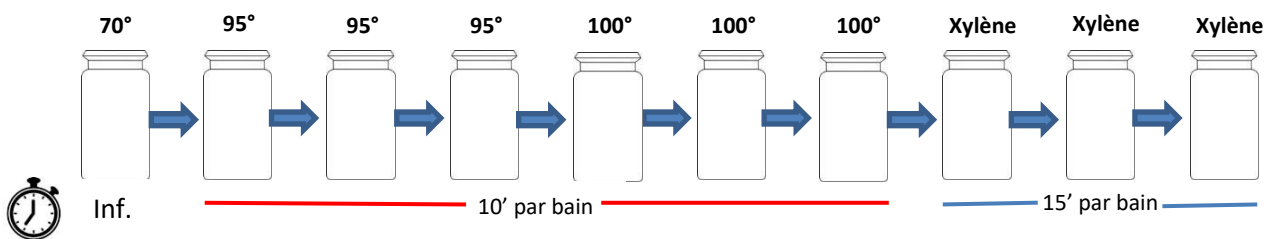
II. Inclusion

La paraffine étant hydrophobe, il faut déshydrater avec des bains successifs d'alcool de degrés croissants, puis remplacer l'alcool par un solvant miscible avec la paraffine, le xylène.

A. Déshydratation

Eliminer l'alcool 70°, placer une larve par pilulier et réaliser les différentes étapes comme suit pour chaque pilulier. Si nécessaire, s'assurer une reconnaissance individuelle des échantillons en plaçant un papier annoté sous chaque pilulier.

1. Alcool 95°
Réaliser trois bains successifs de 10 minutes.
2. Alcool 100°
Réaliser trois bains successifs de 10 minutes.
3. Xylène
Réaliser trois bains successifs de 15 minutes.

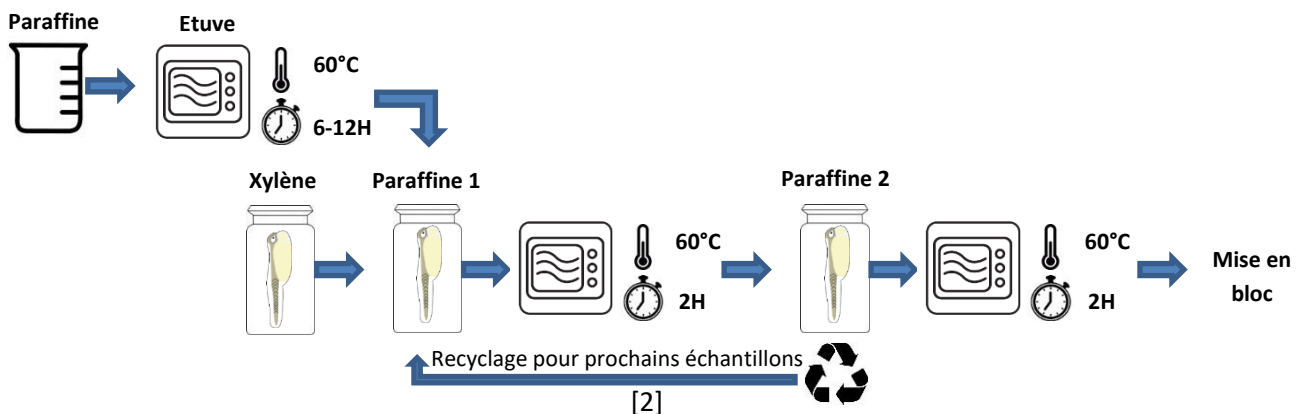


B. Mise en paraffine

Cette phase nécessite la fusion préalable de la paraffine nécessaire dans un bécher placé en étuve chauffée à 60°C.

1. Avant la fin des manipulations de déshydratation, placer dans l'étuve chauffée à 60°C un nombre de piluliers en verre équivalent au nombre de larves à inclure.
2. Remplir à moitié chaque pilulier de paraffine et les replacer à l'étuve pour liquéfier.
3. Sortir une larve du xylène et la placer dans un des piluliers à paraffine. Placer un papier annoté dans la paraffine pour reconnaître les échantillons, réitérer pour chaque larve.
4. Laisser les piluliers 2 heures dans l'étuve chauffée à 60°C.
5. Au terme des 2 heures, changer la paraffine en faisant attention de ne pas verser la larve avec la paraffine usagée.
6. Réaliser un deuxième bain de paraffine en étuve durant 2 heures.

N.B : Vérifier la présence des organes cibles des individus sélectionnés, notamment le tube digestif chez les clupéidés qui est susceptible de se désolidariser. La paraffine utilisée pour le deuxième bain peut être utilisée pour le premier bain des échantillons suivants.



c. Mise en blocs

- **Barres de Leuckart**

1. Disposer les barres de Leuckart sur une plaque, de manière à créer un puit.
2. Déposer une fine couche de paraffine au fond du puit.
3. Mettre la larve dans la position souhaitée, proche de la barre inférieure (**zone rouge**).
4. Rajouter délicatement de la paraffine dans le puit jusqu'à environ mi-hauteur et placer un morceau de papier annoté.
5. Laisser reposer une heure environ puis décoller les cubes solidifiés avant de les placer au moins 12 heures au réfrigérateur.

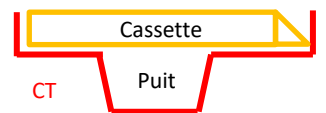
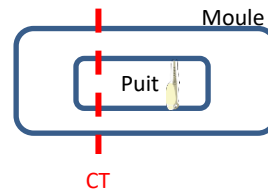


Les blocs de paraffine se conservent à l'abri de la chaleur.

N.B : A chaque étape de l'inclusion, éviter la formation de bulles dans la paraffine. Pour éliminer leur formation, chauffer une pince avec une lampe à alcool et faire refondre la zone contenant des bulles. Il est également important de placer l'étiquette de manière à connaître la position de la larve dans le bloc de paraffine.

- **Moules et cassettes à inclusion**

1. Commencer par annoter les cassettes nécessaires au nombre de larves.
2. Poser le moule à l'horizontale sur la paillasse.
3. Couler de la paraffine jusqu'en haut du puit.
4. Mettre la larve dans la position souhaitée, soit parallèle au fond du moule pour une coupe longitudinale.
5. Déposer la cassette annotée sur la butée du puit.
6. Comblé le moule avec de la paraffine.
7. Laisser reposer une heure environ avant de décoller la cassette du moule.
8. Placer les cassettes au réfrigérateur pendant au moins 12 heures.



Les cassettes de paraffine se conservent à l'abri de la chaleur.

III. Coupe et collage

Cette première étape est à réaliser seulement sur les blocs montés grâce aux barres de Leuckart. Pour une mise en paraffine via cassettes d'inclusions, éliminer la paraffine qui dépasse éventuellement, fixer la cassette sur le microtome puis commencer à partir de « 2. ».

Après avoir récupéré les blocs de paraffine solidifiés, dégrossir par copeaux la zone d'inclusion à l'aide d'un rasoir de manière à obtenir un trapèze contenant la totalité de la larve (zone rouge).



N.B : pour une coupe propre, prendre soin à ce que la face supérieure et inférieure (**traits jaune**) du trapèze soient parallèles.



Une fois le bloc taillé, le positionner dans le microtome.

1. Positionner le bloc de manière à ce que la face du trapèze soit parallèle à la lame.
2. Régler l'angle du microtome à 5°, mettre le mode TRIM réglé à une épaisseur de 10µm.
3. Lancer la découpe et attendre l'apparition de la larve pour passer en mode SECT/CONT, réglé à une découpe de 7µm et une vitesse comprise entre 3 et 5 (selon préférences).
4. Lors de la découpe, la paraffine doit fournir un ruban peu strié et non percé. Si le ruban a du mal à se former, utiliser un pinceau fin pour aider à l'initialisation du ruban après avoir nettoyé la lame.
5. Le ruban obtenu doit être placé sur un papier noir à dessin.

Avant la phase de collage, s'assurer d'avoir dégraissé les lames avec une solution d'alcool à 95° et 1% d'acide acétique avant de les avoirs rincés à l'eau distillée et mise à sécher à l'étuve.

1. Couper le ruban à l'aide d'un rasoir, en morceaux d'une longueur équivalente à environ la moitié de celle de la lame.
2. Eliminer les parties ne possédants pas de coupes de la larve.
3. Poser une lame, préalablement annotée, sur la plaque chauffante (60°C) et y déposer une couche de solution d'albumine à 1% sur toute la surface.
4. Déposer très délicatement le morceau de ruban au milieu de la lame recouverte de la solution. Le ruban va ainsi s'étirer.
5. Attendre quelques secondes l'étirement total du ruban avant de récupérer la lame.
6. Poser la lame sur une feuille de papier absorbant et faire en sorte d'éliminer l'albumine par capillarité sans déplacer le morceau de ruban.
7. A l'aide d'un morceau de papier absorbant, éponger délicatement le restant d'albumine autour du morceau.
8. Laisser la lame sécher 5 minutes au-dessus de la plaque chauffante.

Une fois la totalité du ruban mis sur lames, placer l'ensemble du portoir à lame à l'étuve pour environ 12 heures à une température de 37°C.



Après l'étuve, les lames peuvent être conservées à l'abri de la poussière et de la lumière.

IV. Coloration

Les colorants étant en solution aqueuse, il faut éliminer la paraffine et réhydrater les lames pour pouvoir les colorer. Après coloration, on déshydrate par des bains d'alcool et de xylène avant le montage.

A. Déparaffinage

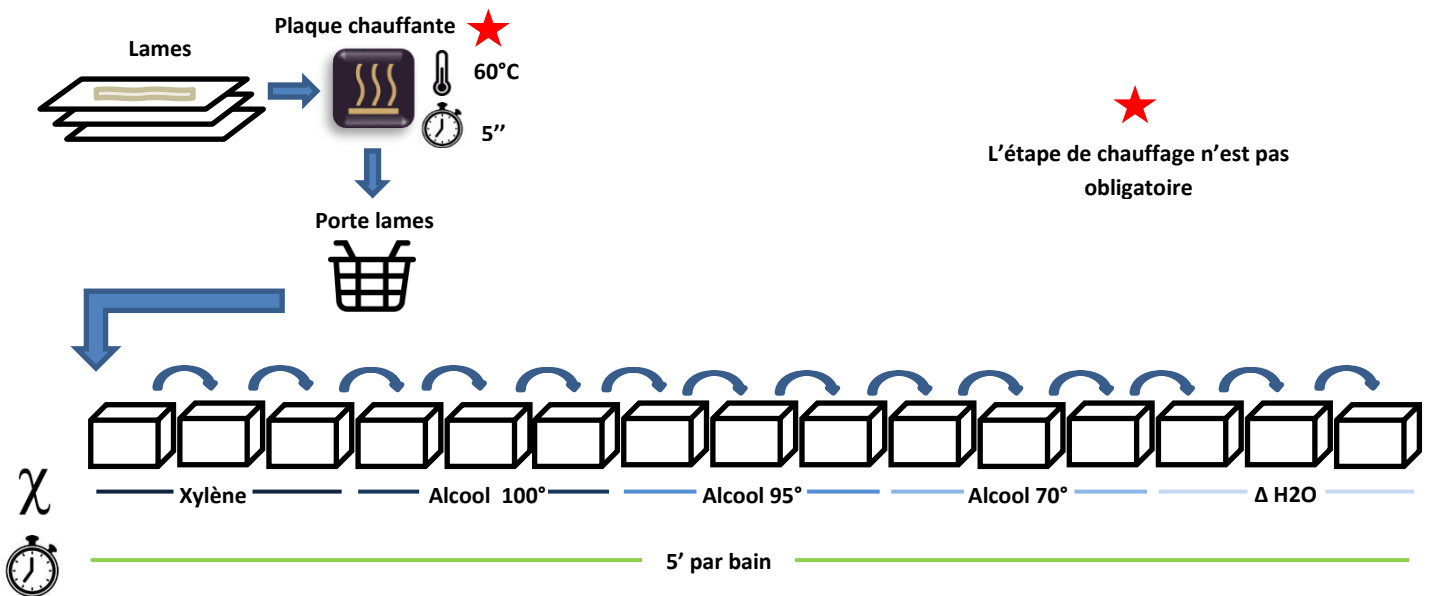
Suite au séchage en étuve, récupérer les lames et mettre la plaque chauffante à chauffer à une température supérieure au point de fusion de la paraffine (60°C).

1. Poser la lame sur la plaque environ 5 secondes le temps à la paraffine de fondre.
2. Placer les lames dans le porte-lames avant de réaliser les différents bains de déparaffinage
3. Xylène

- Réaliser trois bains de 5 minutes.
- 4. Alcool 100°
Réaliser trois bains de 5 minutes.
- 5. Alcool 95°
Réaliser trois bains de 5 minutes.
- 6. Alcool 70°
Réaliser trois bains de 5 minutes.
- 7. Eau distillée
Réaliser trois bains de 5 minutes.



Les lames peuvent rester quelques jours dans l'eau distillée au réfrigérateur.



B. Coloration et déshydratation

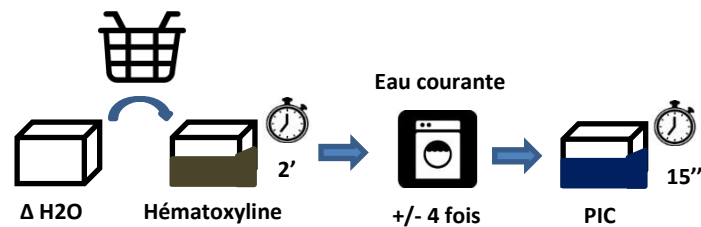
Cette phase nécessite la mise en place au préalable des colorants. Préparer ainsi une cuve remplie d'hématoxyline de Groat (colorant nucléaire) et une cuve remplie d'une solution de picro-indigocarmin (colorant cytoplasmique).

1. Sortir les lames de l'eau distillée et les placer dans la cuve d'hématoxyline de Groat pendant 2 minutes.
2. A terme, sortir les lames et les rincer à l'eau courante du robinet dans une cuve. Rincer et verser délicatement jusqu'à ce que la solution reste claire (~4-5 fois).

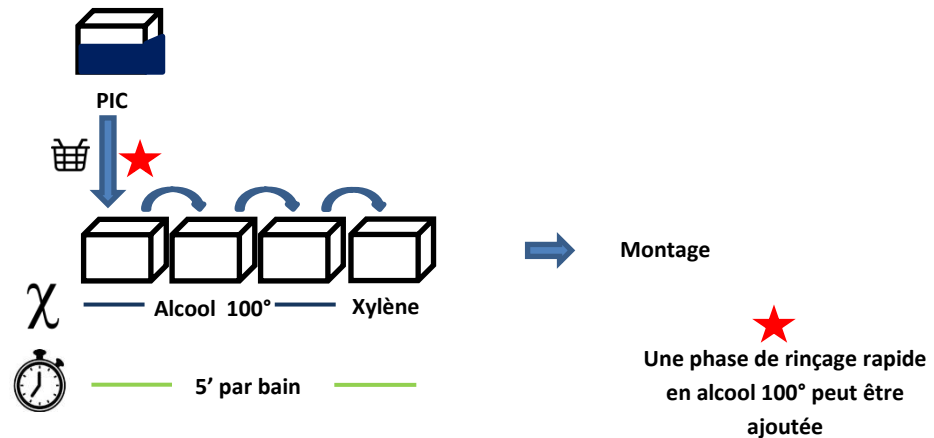
3. Mettre les lames dans la solution de picro-indigocarmin (PIC) pendant 15 secondes.
4. Sortir les lames et réaliser immédiatement la phase de déshydratation:
5. Alcool 100°
Réaliser trois bains successifs de 5 minutes chacun.
6. Réaliser un bain de xylène de 5 minutes.

N.B : Ici, les noyaux et les cytoplasmes basophiles seront colorés en brun tandis que les cytoplasmes acidophiles et les nucléoles en jaune ou vert. D'autres méthodes de colorations sont compatibles avec ces tissus, notamment la coloration hémalum-éosine.

Coloration



Déshydratation



C. Montage

Au terme du bain de xylène, sortir les lames et les laisser sécher afin de réaliser la phase de montage de la lamelle.

1. Poser la lame sur une feuille de papier absorbant.
2. Déposer une ligne de résine d'Eukitt au centre de la lame sur toute la longueur.
3. Avec une pipette, faire goutter environ 1 ml de xylène sur la lame pour liquéfier la résine.
4. Prendre une lame et la déposer en biais sur la longueur arrière de la lame.

5. Coucher la lamelle le plus délicatement possible afin d'éviter la formation de bulles entre lame et lamelle.
6. Mettre le montage à l'horizontale sur le papier absorbant afin d'absorber par capillarité le trop plein de résine et faire chasser les bulles éventuellement formées. Pour chasser les bulles récalcitrantes, appuyer doucement sur la lamelle avec une pince.
7. Poser les montages réalisés à plat sur une feuille de papier absorbant et laisser sécher au moins 12 heures.



Une fois sèches, les lames se conservent indéfiniment.

Annotation des lames

Code campagne_Mois _ Station _Fixateur_N°larve_Code espèce_N°lame

Ex : R17324B2So1/5

Soit, campagne REIVE 2017 en Mars, station 24, fixé au Bouin, larve N°2, *Solea solea*, lame 1/5

V. Lecture des lames

Bien que plusieurs méthodes d'intégration de la condition trophique des larves de poissons via l'histologie soient disponibles dans la littérature, la méthode ici présentée est tirée de : Boulhic, M. (1991). Recherches d'indices de jeûne chez la larve de sole, Solea solea (Linnaeus, 1758): approche expérimentale et application dans le golfe de Gascogne (Doctoral dissertation).

La méthode vise en l'inspection rigoureuse, sous microscope optique, des organes répondant au jeune. Ainsi, l'estomac, les intestins, le foie et le pancréas sont les organes cibles. Selon l'état d'avancement de la dénutrition, un grade histologique est donc attribué à chaque larve en fonction de l'état physique des structures digestives.

Grades	Etat	Observations
6	Bonne santé	Réserves de glycogène dans le foie, sous forme de vacuoles dans les hépatocytes
5	Bonne santé	Absences de réserves de glycogène dans le foie
4	Intermédiaire	Signes de digestions et d'absorption. Début d'altération du tube digestif (estomac ou intestin postérieur)
3	Dénutrition légère	Tractus digestif et foie altérés. Signe d'absorption possible
2	Dénutrition avancée	Tous les organes sont altérés. Aucuns signes d'alimentation
1	Point de non-retour	Absence de grains de zymogène dans le pancréas

Solutions

Les méthodes de confection des colorants polychromes sont tirées de : Martoja, R., & Martoja-Pierson, M. (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale.

● Hématoxyline de Groat

Pour 100ml de solution finale

Solution 1 :

Acide sulfurique concentré → 0.8ml

Alun de fer → 1 g

Eau distillée → 50 ml

Solution 2 :

Hématoxyline → 0.5g

Alcool 95° → 50ml

Après dissolution, mélanger les solutions 1 et 2, laisser reposer 1 heure avant de filtrer.

Se conserve 3 mois

● Picro-indigocarmin

Pour 100ml de solution finale

Indigo-carmin → 0.25 g

Solution aqueuse saturée d'acide picrique → 100ml

Laisser reposer 1 heure puis filtrer

Se conserve 6 mois

Protocole d'analyse ARN/ADN appliqué à l'étude de la condition des larves de poissons

Liste matériel

A. Machines

- Fluorimètre Qubit 2.0
- Vortex
- Centrifugeuse
- Loupe binoculaire

B. Verrerie

- Microbilles
- Boîtes de Pétri

C. Consommables liquides

- Ethanol 95%

- Tampon Tris-SDS (*)
- Phénol/Chloroforme/Alcool isoamylique (25:24:1)
- Solution de réaction ADN et ARN (*)
- Solution standard ADN et ARN (*)
- Chloroforme/Alcool isoamylique (24:1)

D. Divers

- Glacière
- Pains de glace
- Glace
- Pincettes fines
- Eppendorfs 2ml
- Pipettes automatiques et cônes (1ml, 200µl et 20µl)
- Eppendorfs PCR 0.5ml

Les préparations des solutions précédées d'une (*) sont détaillées partie : « Solutions »

*Les méthodes relatives aux différentes étapes de ce protocole et les différentes solutions ont été adaptées de : Yandi, I., & Altinok, I. (2015). Defining the starvation potential and the influence on RNA/DNA ratios in horse mackerel (*Trachurus mediterraneus*) larvae. Helgoland marine research, 69(1), 25.*

Préparation du matériel

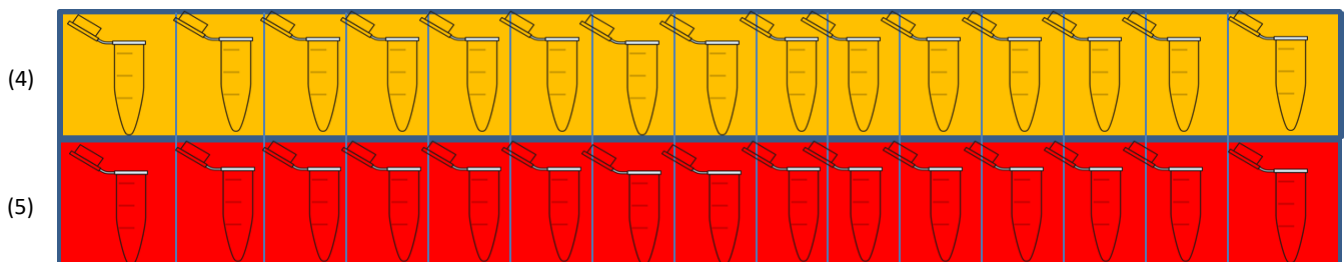
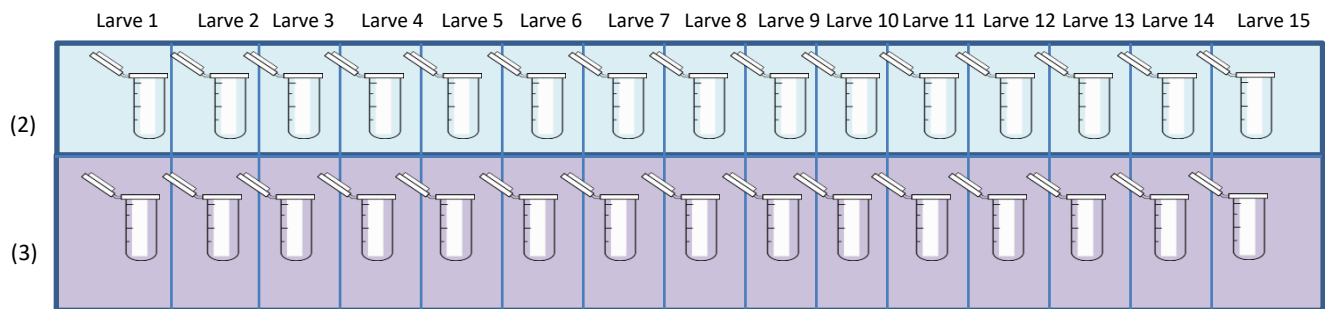
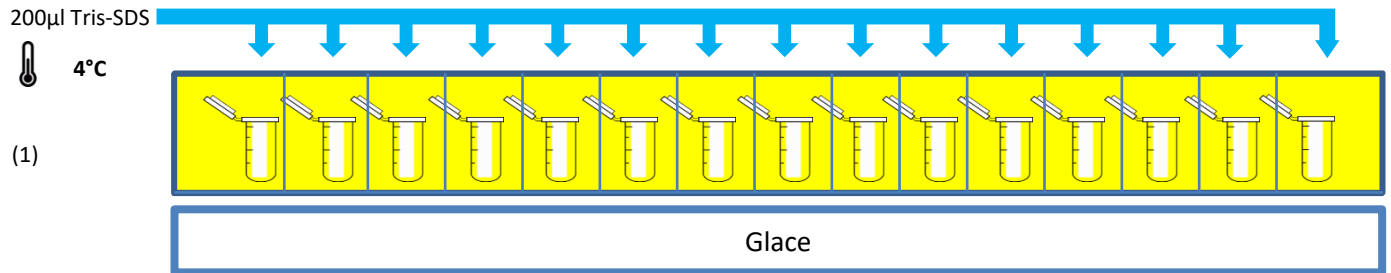
Afin d'optimiser les analyses il est vivement conseillé de préparer en amont l'annotation des différents consommables qui seront nécessaires. Il est également impératif de préparer la solution **Tampon Tris-SDS** au moins un jour avant le début des analyses.

Le protocole est adapté pour l'analyse de séries de 15 larves. L'annotation doit être claire et référer à un N° de larve qui sera noté sur la feuille « **condition larvaire** » avec toutes les informations nécessaires (espèce, taille/stade, campagne, station).

Ainsi, préparer :

Protocole d'analyse ARN/ADN
Jérémy Denis et Julien Di Pane-IFREMER

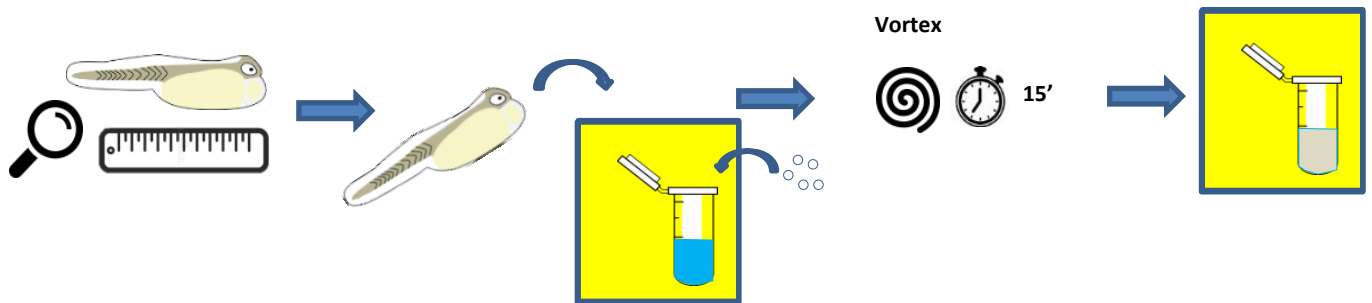
- 15 Eppendorfs annotés avec 200µl de tampon Tris-SDS à 4°C pour la **lyse** de l'ADN et ARN (1)
- 15 Eppendorfs numérotés pour l'**extraction** (2)
- 15 Eppendorfs numérotés pour l'**analyse** (3)
- 15 Eppendorfs numérotés pour PCR de 0.5ml pour l'**ADN** (4)
- 15 Eppendorfs numérotés pour PCR de 0.5ml pour l'**ARN** (5)



Protocoles

I. Broyage

1. Mesurer la longueur standard à l'aide d'une règle micrométrique (au 1/10 de mm). Cette opération s'opère sous loupe binoculaire à lumière froide.
2. Placer chaque larve dans l'Eppendorf « lyse » associé, contenant au préalable 200µl de tampon Tris-SDS à 4°C.
3. Ajouter environ 5 billes de verre dans chaque Eppendorf.
4. Passer les Eppendorfs au vortex pendant 15 minutes.



II. Extraction de l'ARN et ADN

1. Centrifuger le broyat à 8000 G pendant 10 minutes à 4°C.
2. Ajouter 360µl de **Phénol/Chloroforme/Alcool isoamylique** (25 :24 :1) dans chaque Eppendorf.
3. Passer les Eppendorfs au vortex pendant 5 minutes.
4. Centrifuger à 3800 G pendant 10 minutes à 4°C.

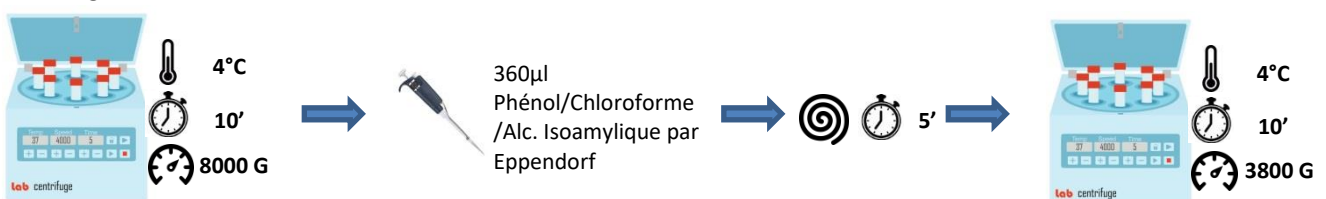


$$G \text{ (ou RCF)} = 1.12 * R * \left(\frac{RPM}{1000}\right)^2$$

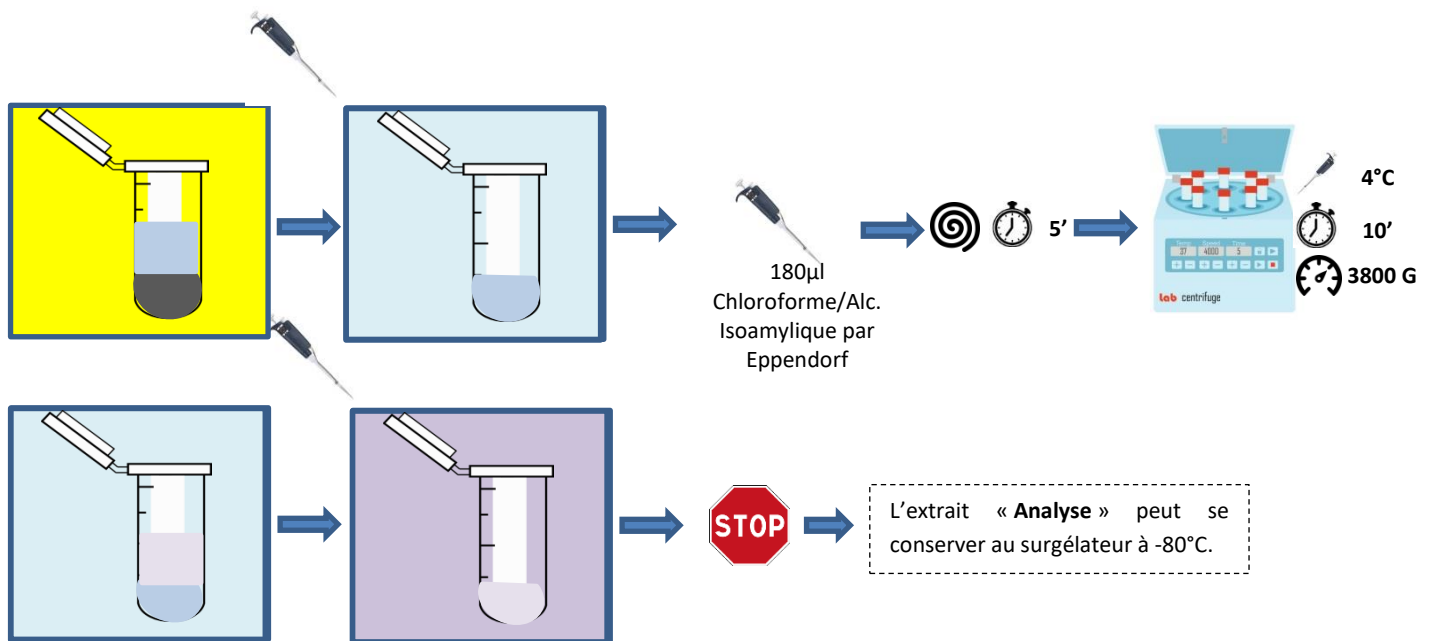
Avec RPM : Tours par minutes

R : Rayon du support (mm)

Centrifugeuse



5. Transférer le surnageant à l'aide d'une pipette automatique dans l'Eppendorf « **extraction** » associé à chaque larve.
6. Ajouter 180µl **Chloroforme/Alcool isoamylique** (24 :1) dans chaque Eppendorf
7. Passer les Eppendorf au vortex pendant 5 minutes
8. Centrifuger à 3800 G pendant 10 minutes à 4°C
9. Transférer le surnageant à l'aide d'une pipette automatique dans l'Eppendorf « **analyse** » associé à chaque larve.



III. dosage de l'ARN et ADN

Avant l'étape de dosage au Qubit, il est impératif de calibrer les standards avant chaque série d'analyse. Ils permettent de calibrer la machine pour des valeurs hautes et faibles d'ARN et ADN. Il faut donc préparer quatre standards.

I. Préparation des standards et étalonnage

A. Standards ADN

1. Préparer deux tubes Eppendorf PCR, un noté « **-D** » et l'autre « **+D** ».
2. Ajouter 190µl de **solution de réaction ADN** (voir partie « **Solutions** ») dans chaque tube.
3. Ajouter 10µl de solution standard (fournie dans le kit) de faible concentration en ADN (0 ng/µg) dans le tube « **-D** ».

4. Ajouter 10µl de solution standard (fournie dans le kit) de forte concentration en ADN (10 ng/µg) dans le tube « **+D** ».
5. Mesurer de suite ou conserver à 4°C une journée maximum.

B. Standards ARN

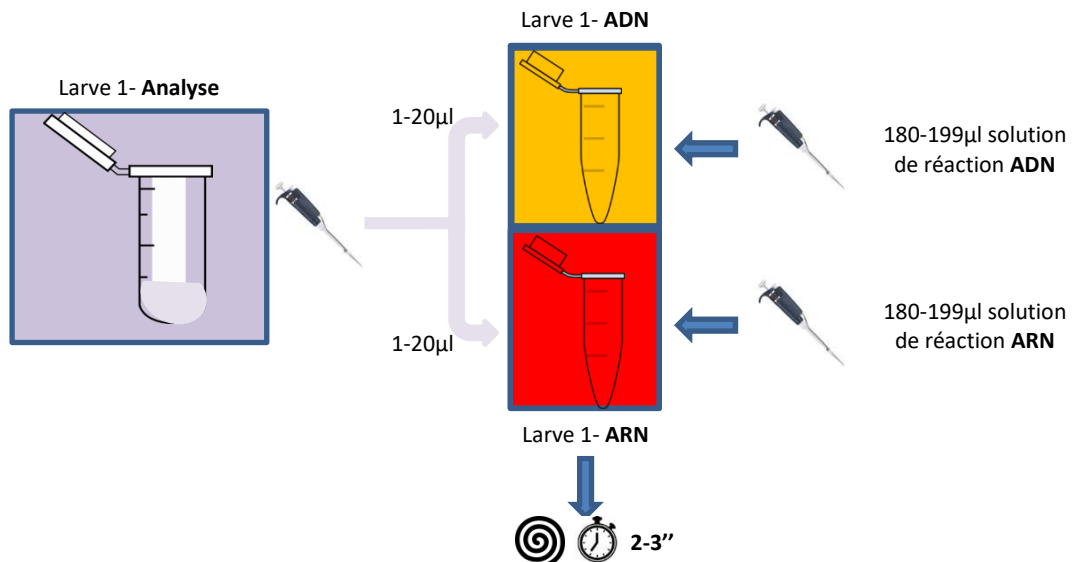
1. Préparer deux tubes Eppendorf PCR, un noté « **-R** » et l'autre « **+R** ».
2. Ajouter 190µl de **solution de réaction ARN** (voir partie « **Solutions** ») dans chaque tube.
3. Ajouter 10µl de solution standard (fournie dans le kit) de faible concentration en ARN (0 ng/µg) dans le tube « **-R** ».
4. Ajouter 10µl de solution standard (fournie dans le kit) de forte concentration en ARN (10 ng/µg) dans le tube « **+R** ».
5. Mesurer de suite ou conserver à 4°C une journée maximum.

II. Dosage

La quantité d'extrait, et par conséquence, celle de solution de réaction à introduire dans le tube « **Analyse** » est dépendante de la morphologie de l'espèce. En effet, pour une larve de grande taille, la quantité d'ADN et d'ARN contenue dans une certaine quantité d'extrait sera plus élevée que pour une larve de petite taille. Ainsi la quantité d'extrait est à adapter en fonction de l'espèce, voir du stade de développement. La somme doit toujours être de 200µl avec 1 à 20µl d'extrait et 180 à 199µl de solution de réaction. Ci-dessous une liste des quantités d'extrait et de solution de réaction utilisées pour chaque espèce analysées.

Espèce	Volume extrait (µl)	Volume sol. Réac. (µl)
Hareng	20	180
Merlan	1	199
Plie	1	199
Sole	10	190
Sprat	10	190

1. Transférer 1-20 μ l d'extrait du tube « **Analyse** » dans chaque tube PCR **ADN** correspondant.
2. Ajouter 180-199 μ l de **solution de réaction ADN**.
3. Passer les 15 tubes au vortex 2 à 3 secondes.
4. Transférer 1-20 μ l d'extrait du tube « **Analyse** » dans chaque tube PCR **ARN** correspondant.
5. Ajouter 180-199 μ l de **solution de réaction ARN**.
6. Passer les 15 tubes au vortex 2 à 3 secondes.



7. Laisser incuber 2 minutes à température ambiante les 30 tubes.
8. Mesurer l'ADN et L'ARN au fluorimètre Qubit et renseigner la feuille pour chaque larve.
9. Une fois les valeurs de concentrations obtenues, soustraire la quantité (en ng/ml) d'ARN par celle d'ADN. Renseigner la feuille.



Cette valeur est obtenue pour un volume de broyat de 90 μ l. Il peut être d'usage de rapporter cette valeur au volume initial de broyat, soit 200 μ l dans notre cas.

10. Au cas cela peut être nécessaire, le reste de surnageant des tubes « **Analyse** » peut être recongelés au surgélateur à -80°C.

Solutions

Pour la préparation des solutions, s'assurer que tous les récipients ont été nettoyés à l'eau courante, désinfectés à l'alcool 95° puis rincés à l'eau distillée.

- **Tampon Tris-SDS**

Protocole pour une solution finale de 100ml et aux propriétés : 0,1 M NaCl, 50 mM Tris-HCl pH 7.8-8.5 et 10 mM EDTA

1. Chlorure de Sodium 5M → NaCl
Pour 10ml de solution, placer 0.5844 g de NaCl 98.5% dans un tube, et compléter à l'eau distillée.
2. Sodium Dodecyl Sulfate 2% → SDS
Pour 100ml, placer 2.030 g de SDS 98.5% et compléter à l'eau distillée

Une fois ces deux solutions prêtes, pour 100 ml de solution tampon Tris-SDS, dans un pot à autoclave, placer :

1. 2ml de la solution NaCl 5M
2. 5 ml de Tris-HCL 1M
3. 2 ml d'EDTA 0.5M
4. 91ml de solution SDS 2%

Mélanger la solution et placer le pot en autoclave pendant 30 minutes à 125°C.

La solution se conserve à 4°C. Laisser réchauffer à température ambiante avant début des analyses.

- **Solution de réaction ADN**

La quantité de solution à préparer est dépendante du nombre d'échantillons et de standards à analyser. Dans notre cas, on considère un nombre d'échantillon égal à 15, et deux standards (« **-D** » et « **+D** »). Tous les produits sont fournis dans les kits. La concentration en colorant dans la solution de réaction doit être de 0.5%.

Dans un tube approprié :

1. Verser 3383µl de solution tampon ADN (soit $199\mu\text{l} * n$, avec n = nombre d'échantillons et de standard, soit 17).
2. Ajouter 17µl de colorant ADN (soit $1\mu\text{l}*n$).

Se conserve à 4°C. Laisser réchauffer à température ambiante avant début des analyses.

- **Solution de réaction ARN**

La quantité de solution à préparer est dépendante du nombre d'échantillons et de standards à analyser. Dans notre cas, on considère un nombre d'échantillon égal à 15, et deux standards (« **-R** » et « **+R** »). Tous les produits sont fournis dans les kits. La concentration en colorant dans la solution de réaction doit être de 0.5%.

Dans un tube approprié :

1. Verser 3383 μ l de solution tampon ARN (soit $199\mu\text{l} * n$, avec n = nombre d'échantillons et de standard, soit 17).
2. Ajouter 17 μ l de colorant ARN (soit $1\mu\text{l}*n$).

Se conserve à 4°C. Laisser réchauffer à température ambiante avant début des analyses.