



HAL
open science

Semer l'ormeau dans le milieu naturel : rôles du milieu et des caractéristiques biologiques d'*Haliotis tuberculata* dans la réussite du repeuplement

Pierre Chauvaud

► To cite this version:

Pierre Chauvaud. Semer l'ormeau dans le milieu naturel : rôles du milieu et des caractéristiques biologiques d'*Haliotis tuberculata* dans la réussite du repeuplement. Ecosystèmes. Université de Bretagne occidentale - Brest, 2022. Français. NNT : 2022BRES0017 . tel-04112034

HAL Id: tel-04112034

<https://theses.hal.science/tel-04112034v1>

Submitted on 31 May 2023

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.

THESE DE DOCTORAT DE

L'UNIVERSITE
DE BRETAGNE OCCIDENTALE

ECOLE DOCTORALE N° 598
Sciences de la Mer et du littoral
Spécialité : Écologie marine

Par

Pierre CHAUVAUD

Semer l'ormeau dans le milieu naturel

Rôles du milieu et des caractéristiques biologiques de *Haliotis tuberculata*
dans la réussite du repeuplement

Thèse présentée et soutenue à Plouzané, le 21 mars 2022

Unité de recherche : Laboratoire des sciences de l'environnement marin (UMR 6539)

Rapporteurs avant soutenance :

Anne-Sophie DARMAILLAC MCF - HDR – Université Caen

Stéphanie AUZOUX – BORDENAVE MCF – HDR –
Sorbonne Unité - Station marine de Concarneau

Composition du Jury :

Hélène HÉGARET

Directrice de Recherche CNRS - LEMAR
Présidente du jury

**Anne-Sophie
DARMAILLACQ**

MCF – HDR – Université de Caen
Rapporteur

Stéphanie AUZOUX - BORDENAVE MCF – HDR – Sorbonne Université –
BOREA - Station marine de Concarneau
Rapporteur

Hervé LE BRIS

Professeur - Agro campus – Rennes
Examineur

Ludovic DICKEL

Professeur – Université de Caen
Examineur

Sabine ROUSSEL

Maître de conférences, UBO
Directrice de thèse

Invités :

Jacques GRALL

Ingénieur de recherche, UBO
Co-encadrant scientifique, invité

Grégory CHARRIER

Maître de conférences, UBO
Co-encadrant scientifique, invité

Ce travail a bénéficié du soutien financier de la région Bretagne, pour le **contrat de thèse**, dans le cadre du projet **ORMEL** (Semer l'Ormeau dans le milieu naturEL).



Ces travaux de thèse ont également reçu le soutien financier du Fond Européen pour les Affaires Maritimes et la Pêche (**FEAMP, mesure 26, innovation pêche**) dans le cadre du projet **OURMEL** (Soutien de stock et repeuplement de l'ormeau en zone littorale bretonne et normande).



Remerciements

Au moment de dresser le bilan de ces trois années de thèse je me rends compte combien ce manuscrit est la résultante d'un long parcours, semé d'embuches, mais ponctué de rencontres diverses et de moments d'amitié certains. C'est la fin d'un cycle pour moi et je suis très heureux d'avoir l'opportunité de remercier tous ceux qui m'ont aidé ou accompagné tout au long de cette période.

Je tiens en premier lieu à remercier l'Université de Bretagne Occidentale et la région Bretagne pour avoir financé à parts égales ce travail de thèse.

Je remercie Hélène Hégaret pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse, ainsi que Anne-Sophie Darmaillacq et Stéphanie Bordevane d'être les rapportrices de ce travail. Un grand merci également à Hervé Le Bris et Ludovic Dickel de me faire l'honneur d'évaluer ce travail en tant qu'examineurs.

Je tiens à remercier les deux membres de mon comité de suivi, Sophie Martins et Martial Laurans. Merci pour vos conseils avisés et votre bienveillance à chacune de nos réunions annuelles.

Il me faut exprimer ma profonde gratitude envers ma directrice de thèse Sabine Roussel pour son accompagnement sans faille tout au long de ces trois années. Merci de m'avoir épaulée pour toutes les expérimentations en laboratoire (qui laissaient des traces, il faut en convenir), merci pour ta pédagogie et ta patience. Travailler avec toi a été un réel plaisir et je remercie encore ton investissement, notamment dans cette dernière ligne droite.

Je voudrais également remercier les deux co-encadrants de cette thèse, Grégory Charrier et Jacques Grall. Merci Greg pour ta patience face au néophyte que j'étais, merci pour ces discussions enflammées sur nos jeux de données et surtout merci pour ta bienveillance. Là encore merci pour ton soutien dans cette fin de thèse, je n'aurais pu rêver mieux. Jacques, t'avoir comme encadrant de thèse aura été un plaisir de tous les instants. Merci pour tes conseils avisés, pour nos discussions sur les ormeaux et leur mode de vie (migration, pas migration ?). Merci de m'avoir partagé tes spots de pêche, j'espère que tu ne t'attends pas à

retrouver des ormeaux dans ceux-ci avant un moment ! Merci d'avoir toujours été disponible et à l'écoute.

Je voudrais remercier les deux stagiaires que j'ai eu l'opportunité d'encadrer pendant cette thèse. Merci Julie Muller et merci Benjamin Flais, une partie de ce travail est le vôtre.

Même s'il n'exerce plus, je tenais à remercier Mr Jacques Clavier, pour la qualité de ses enseignements, qui restent gravés dans ma mémoire, ainsi que pour la qualité de sa thèse qui aura été mon livre de chevet par moments. Merci également de nous avoir permis de rencontrer le Dr Rob Day en master, avec qui j'ai eu la chance de co-signer mon premier article.

Je voudrais remercier toute l'équipe de France Haliotis pour son accueil chaleureux et sa disponibilité. Merci Sylvain pour ton intérêt sans bornes sur tout ce qui touche aux ormeaux (entre autres). Merci d'avoir mis à notre disposition tout le matériel dont tu disposais. Merci à l'équipe, au pêcheur de bars légendaire (Fred), à Mary, au capitaine Xavier, à Hélène et à mes deux potes Guillaume et Alex. Merci les gars de m'avoir donné l'opportunité de « creuser des trous » ou encore de « cribler des cages », c'était franchement super top ;).

Je tiens à remercier Olivier Basuyaux pour m'avoir envoyé des ormeaux Normands et d'avoir mis à ma disposition le bateau du SMEL pour que nous allions ensemble prélever des ormeaux à Cherbourg. En restant dans la plongée, toutes les autres sorties en mer ont été réalisées avec les plongeurs de l'IUEM. Merci à Emilie et Valentin pour leur aide. Merci surtout à Isa, Thierry et Erwan car c'est vous qui avez subi mon protocole « loufoque » qui consistait à mesurer des cailloux pendant des heures en plein hiver (vous au moins votre combi ne prenait pas l'eau) ! Vous avez fait preuve d'une grande abnégation et m'avez permis d'acquérir un jeu de données conséquent, merci encore. Je remercie spécialement Erwan pour toutes ces magnifiques photos qui ont notamment servi à illustrer cette thèse (ps : non je n'ai pas peur des phoques mais hmmm, qu'ils ne viennent pas trop près quand même !)

Un grand merci à Eric Dabas, qui m'a aidé à faire survivre des ormeaux pendant plus d'un mois à l'IUEM (un exploit !). Merci également pour ton aide lors des coupes fines des coquilles d'ormeaux. Je tiens également à remercier Julien Thébault qui m'a aidé à essayer de comprendre comment on pourrait lire la croissance des ormeaux. Ce n'est pas gagné mais il faudra persévérer !

Je remercie Michel Le Duff, Erwan Ar Gall et Thomas Burel pour leur aide dans l'identification des macroalgues. Mich, merci également de m'avoir prêté ce magnifique bouquin qui aura été ma bible au moment d'écrire mon introduction générale. Je remercie également l'équipe du secrétariat du LEMAR, vous avez eu à me supporter un certain nombre de fois, merci donc Anne-So et Gene !

Viens maintenant le moment de remercier tous mes amis, qui m'ont accompagné dans nombre de mes activités, diurnes ou nocturnes ☺

Merci tout d'abord à ceux qui m'ont accompagné de très nombreux midi pour courir sur le sentier côtier. Thomas tu as une place à part ici, ta résilience face à l'effort est désormais légendaire. Gabin et Armand, c'était super sympa de m'entraîner avec vous. Armand fais gaffe dans quelques semaines je prends le segment Saint-Anne – Minou (juste le temps de retrouver un minimum de condition physique) ! Merci également à la CIMAteam pour ces multiples compétitions avec vous, vivement le retour aux affaires !

Je tiens aussi à remercier mes compagnons de pêche à pied et de chasse sous-marine, on en aura vécu des bons moments sur l'estran ou sous l'eau. Merci Pierre pour toutes ces sorties avant que tu ne t'en ailles au loin. Guillaume, ce n'était pas gagné au départ mais t'arrives maintenant à mieux voir les animaux bleus à cornes que moi ! Merci de m'avoir aidé à sortir ce Kraken, promis je ne le referai plus. Gabin, Valentin C et Valentin F merci pour ces belles parties de pêche, Valentin F bravo pour ton premier bar et pour cette sortie mémorable de décembre 2021 ! Merci Valentin C de m'avoir redonné le goût de la pêche à la canne, va falloir y retourner ! Je tiens à adresser une mention spéciale à Gabin, naturaliste étrange qui préfère déterminer des bryozoaires plutôt que de pêcher des ormeaux, mais qui arrive néanmoins à trouver des 11 cm « par hasard » ;).

Merci à Mr général Mathevet de d'être toujours présent après toutes ces années d'amitié. On pourra se revoir plus souvent maintenant que t'es en France ☺. Merci aussi à FDR, alias Clément pour cette super année en coloc, courage à toi pour la fin de ta thèse et sait-on jamais peut être bientôt la course pour leeeeee SAC ?

Merci aux deux compères Guillaume et Alex, pour ces soirées chez Alex ou l'on commençait à songer au repas vers 23h (alors que c'était du homard quand même ;)) C'était sympa de

cuisiner des moules de nuit à 15 km de l'endroit où l'on allait finalement les manger dans le noir ! J'espère qu'on va vite se revoir maintenant que j'aurai plus de temps ☺.

Merci à tous les doctorants qui se sont succédés dans le bureau A160 (au fond du couloir). Merci à Fanny, Leslie, Sarah, Valentin, Rémi et Dong Dong pour votre sympathie et vos discussions. Merci Fanny et Sarah d'avoir accepté l'aquarium d'eau de mer dans un premier temps, puis les phasmes dans un second temps, difficile de nous avoir Valentin et moi comme collègues ! Merci à Mathilde G de m'avoir gentiment prêté ton bureau pendant 2 mois pour que je puisse travailler tranquillement sur la fin.

Merci aux vieux compères du master qui ont continué en thèse, je parle évidemment de Guigou, Fanny (la mangeuse d'algues) et Mathieu (Mr y'a moyen, enfin jsais pas). Mathieu, t'auras finalement rendu avant moi, mais de peu ! Merci Guigou pour ta bonne humeur constante et communicative, « Baroombar ou bien » ? Merci aussi pour tes qualités innées de chanteur lyrique et ta propension à détériorer tout type d'objet, on se sera bien marré.

Merci à tous les potes de LEMAR avec qui on a passé tellement de bons moments, la liste est longue et j'espère n'oublier personne. Merci Toto(mate) Burel, Mathilde Bertrand, Mathilde Gigot, Manon Buscaglia, Valentin Siebert, Mickael Perron, Rémi Brosse, Wendy Diruit, Margot Deléglise, Jennifer Laurent, Anthony Voisin, Nolween Kergosien, Victor Leite Jardim, Romina, Amandine Morot, Chirine Toumi, Marianna Ventura (holé!), Antoine Bideau, Elie Retailleau, Maéva Gesson, Julien Marticorena, Sarah Itoiz, Fanny Kerninon et William Handal.

Je remercie du fond du cœur ma famille qui m'a toujours soutenu. Merci à mes parents pour avoir éveillé ma curiosité pour les bêtêtes marines (et pas que) depuis toujours, j'ai été très bien entouré. Merci aussi de m'avoir laissé faire mes choix en toute circonstance. Merci au gamin, à mon petit frère pour tout ce que l'on a fait. Tu as emprunté toi aussi le chemin de la biologie marine (tu n'es jamais que le 4^{ème} en 2 générations ;p), et m'a été d'une aide précieuse dans cette thèse. Merci pour tout.

Il sera difficile de remercier Luana à la hauteur de ce qu'elle m'a apporté. Merci d'avoir été là dans tous les instants, merci pour ta patience extrême et pour ton réconfort. Tu as toujours cru en moi et m'a énormément aidé à mener à bien cette thèse. Il ne te reste qu'à rendre toi aussi ton manuscrit de thèse et à nous la liberté ! ☺.



Publications et Communications

Article publié

Chauvaud, P., Day, R., Roussel, S., 2021. No evident effect of domestication on the anti-predator behaviour of European abalone (*Haliotis tuberculata*): Implication for stock enhancement programs. *Applied Animal Behaviour Science*. 244, 105470.

Articles en préparation

Chauvaud, P., Day, R., Charrier, G., Muller, J., Roussel, S., 202x. Behavioural responses of European abalone (*Haliotis tuberculata*) to starvation and seeding preparation procedures: implications for stock enhancement programs.

Chauvaud, P., Grall, J., Burel, T., Flais, B., Roussel, S., 202x. European abalone (*Haliotis tuberculata*) quantitative habitat characterization with restocking or stock enhancement objectives.

Chauvaud, P., Charrier, G., Roussel, S., 202x. Population genetic structure of natural and hatchery-reared populations of European abalone *Haliotis tuberculata tuberculata* in Brittany and Normandy: lessons for future restocking and stock enhancement programs.

Communications orales

Comité de pilotage du projet OURMEL (2019, Plouzané) avec des membres du comité régional des pêches – Présentation du projet de recherche.

Séminaire « L'ormeau européen dans un contexte de changement climatique » (2020, Concarneau) – Présentation des expérimentations présentées en chapitre 2.

PEPITE (2021) au sein du LEMAR – Présentation du projet de thèse.

Communication écrite

International Symposium on Stock Enhancement and Sea Ranching (2019, Sarasota, Floride, USA) -Présentation d'un poster sur les premières étapes de la préparation d'une implantation d'individus de l'ormeau européen en France.

Sommaire

INTRODUCTION GÉNÉRALE	15
1. Raréfaction généralisée des ressources halieutiques	16
2. Présentation du genre <i>Haliotis</i>	17
2.1. Phylogénie et phylogéographie du genre <i>Haliotis</i>	17
2.2. Diversité du genre <i>Haliotis</i> en Europe	19
3. Ecologie, physiologie de l'ormeau européen <i>Haliotis tuberculata</i>	21
3.1. Anatomie interne et externe	21
3.1.1. Coquille et pied	21
3.1.2. Tête et masse viscérale	22
3.2. Cycle de vie, croissance, alimentation, habitat et comportement	24
3.2.1. Cycle de vie	24
3.2.2. Croissance	28
3.2.3. Alimentation	31
3.2.4. Habitat	32
3.2.5. Comportement dans le milieu naturel	32
4. Effets des pressions naturelles et anthropiques sur les stocks naturels des espèces du genre <i>Haliotis</i>	34
4.1. Impact des agents pathogènes sur les stocks d'ormeaux sauvages et d'élevage dans le monde	34
4.2. Effets des activités humaines sur les espèces du genre <i>Haliotis</i>	35
4.2.1. Effets de la dégradation de l'habitat	35
4.2.2. Effort de pêche et état des stocks d'ormeaux dans le monde	36
4.2.3. Effort de pêche et état des stocks chez <i>Haliotis tuberculata</i> en Bretagne et Normandie	38
5. Mesures pour enrayer la diminution des stocks d'ormeaux dans le monde	40
5.1. Arrêt de la pêche, restauration de l'habitat, mise en place de réserves	40
5.2. Repeuplement, soutien de stocks et <i>ranching</i>	40
5.2.1. Présentation générale des différents concepts	40
5.2.2. Historique de la mise en place des programmes d'implantation	41
5.2.3. Facteurs pouvant limiter la survie dans le milieu naturel après implantation	42
5.3. Aquaculture	48
5.3.1. Aquaculture au niveau mondial	48
5.3.2. Historique de l'aquaculture des ormeaux dans le monde	48
5.3.3. Aquaculture des ormeaux en France	50
5.3.4. Effets de l'aquaculture sur les organismes élevés	50
6. Problématique et objectifs de la thèse	54
6.1. Démarche responsable du soutien de stocks / repeuplement	54
6.2. Problématique de la thèse	54
6.3. Objectifs de la thèse	55
6.3.1. Niveau de domestication	56
6.3.2. Niveau de nutrition et de stress	56

6.3.3. Caractérisation de l'habitat de l'ormeau et sélection de sites propices à l'implantation	57
6.3.4. Evaluation préalable de la diversité génétique des populations sauvages et d'élevage	58

CHAPITRE I – No evident effect of domestication on the anti-predator behaviour of European abalone (*Haliotis tuberculata*): implications for stock enhancement programs 59

Contexte et résumé de l'étude 60

Abstract 61

1. Introduction	62
2. Materials and methods	64
2.1. Animals and rearing	64
2.2. Experiment procedure	65
2.3. Predator tests	65
2.4. Assays of activity pattern, self-righting and hiding	66
2.5. Mesocosms survival assay	68
2.6. Statistical analyses	68
2.7. Animal handling post-experiment	70
3. Results	70
3.1. Starfish test	71
3.2. Crab test	71
3.3. Righting and hiding	71
3.4. Activity pattern	72
3.5. Survival in mesocosms	74
3.6. Estimated sizes effects	75
4. Discussion	76
4.1. Short-term behavioural responses to stressful situations	76
4.2. Activity pattern	77
4.3. Mesocosms mortalities	78
4.4. Effects of domestication on European abalone juvenile behaviour	79
5. Conclusions	81

CHAPITRE II - Behavioural responses of European abalone (*Haliotis tuberculata*) to starvation and seeding preparation procedures: Implications for stock enhancement programs 83

Contexte et résumé de l'étude 84

Abstract 85

1. Introduction	86
2. Material and methods	88
2.1. Animal and rearing	88
2.2. Experimental procedure	89

2.3. Short-term behavioural tests	91
2.4. Diurnal rhythm	92
2.5. Abalone survival in mesocosms	93
2.6. Statistical analyses	94
3. Results	95
3.1. Righting test	95
3.2. Hiding test	95
3.3. Starfish test	95
3.4. Diurnal rhythm	96
3.5. Survival in mesocosms	99
4. Discussion	100
4.1. Short-term behavioural responses	100
4.2. Diurnal rhythm	102
4.3. Mesocosm mortalities	103
4.4. Perspectives for stock-enhancement program	105
CHAPITRE III - Description et caractérisation de l'habitat de l'ormeau européen (<i>Haliotis tuberculata</i>)	107
Chapitre 3.1 - Etude de la répartition de l'espèce <i>Haliotis tuberculata</i> sur les côtes Manche-Atlantique françaises à plusieurs échelles spatiales	108
1. Introduction	108
2. Matériel et méthodes	109
2.1. Acquisition des données	109
2.2. Réalisation de cartes à différentes échelles spatiales	110
3. Résultats	112
4. Discussion	118
5. Conclusion et mise en perspective	122
Chapitre 3.2 - Caractérisation de l'habitat de <i>Haliotis tuberculata</i> en plongée sous-marine	123
Partie 1 – Mise en place d'un protocole de caractérisation de l'habitat de l'ormeau européen	123
1. Liste des critères décrits dans la littérature	123
1.1. Liste des critères abiotiques	124
1.2. Liste des critères biotiques	129
1.3. Exemples de caractérisation de l'habitat des ormeaux	133
1.4. Mise en place d'un protocole appliqué à l'habitat de <i>Haliotis tuberculata</i>	136
Partie 2 - European abalone (<i>Haliotis tuberculata</i>) quantitative habitat characterization with restocking or stock-enhancement objectives	139
Contexte et résumé de l'étude	139

Abstract	140
1. Introduction	140
2. Material and methods	143
2.1. Localization and selection of the study sites	143
2.2. Sampling protocol	143
2.3. Statistical analyses	145
3. Results	146
3.1. Abalone survey	146
3.2. Microhabitat structure	146
3.2.1. Overall site structure	146
3.2.2. Microstructure comparison between the sites	148
4. Discussion	150
4.1. Overall site structure	150
4.2. Comparisons between the sites	152
5. Conclusion	153

CHAPITRE IV - Population genetic structure of natural and hatchery-raised populations of European abalone *Haliotis tuberculata tuberculata* in Brittany and Normandy: lessons for future restocking and stock-enhancement programs 155

Contexte et résumé de l'étude 156

Abstract 157

1. Introduction	158
2. Materials and methods	161
2.1. Samples collection	161
2.2. SNP selection and laboratory genetic analysis	164
2.3. Data analysis	165
3. Results	165
3.1. Genetic diversity	165
3.2. Population genetic structure	166
4. Discussion	170
4.1. Genetic structure among natural populations	170
4.2. Retention of the genetic diversity in the hatchery-raised stock	172
4.3. Genetic differentiation of the hatchery-raised stock	173
5. Implication for future restocking - stock enhancement programs and perspectives	174

DISCUSSION GÉNÉRALE 176

1. Synthèse	177
2. Synthèse des résultats associés aux analyses comportementales	178
2.1. La domestication n'affecte pas le comportement des juvéniles	178
2.2. Les stress mécaniques induisent des changements de comportement	179

2.3. Perspectives des mesures comportementales	181
3. Répartition de l'ormeau européen et caractérisation de son habitat	183
4. Diversité génétique des populations naturelles et d'élevage	190
5. Conclusion générale	194
5.1. Sélection des géniteurs	195
5.2. Effets des conditions d'élevage	195
5.3. Préparation en amont de l'implantation	195
5.4. Implantation dans le milieu naturel	196
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	199



INTRODUCTION

GÉNÉRALE



1. Raréfaction généralisée des ressources halieutiques

À travers le monde, de nombreuses populations humaines dépendent directement des ressources halieutiques qu'elles puisent dans l'environnement marin, par le biais de la pêche (Selig et al., 2019). Ces ressources peuvent être indispensables à leur alimentation, ou à leur économie, et assurent les revenus de 8 % de la population mondiale (Figure 1) (Barange et al., 2014). La pression de pêche exercée sur les organismes marins s'est intensifiée de concert avec les progrès technologiques des outils de capture. Ces évolutions techniques ont favorisé l'augmentation graduelle de la consommation d'organismes aquatiques par personne et par an, qui est passée de 13,4 kg en moyenne dans les années 90, à 20,5 kg en 2018 (Rapport FAO 2020). Pauly et al. (2005) estiment que les années 1980 ont marqué le pic de production des pêcheries mondiales, et que désormais les débarquements n'augmenteront plus, car la plupart des espèces commerciales sont exploitées au maximum de leur potentiel.

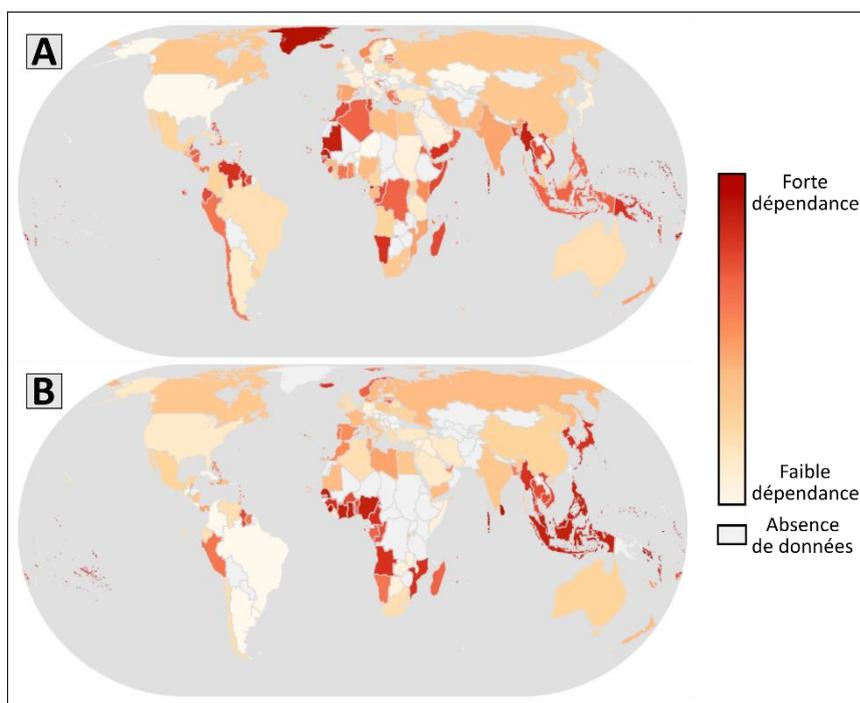


Figure 1 : Niveau de dépendance des populations humaines vis-à-vis des ressources halieutiques issues de la pêche pour : A) leur alimentation, B) leur économie. Cartes issues de Selig et al., 2019.

Les espèces marines sont donc sujettes à un effort de pêche très important, auquel viennent s'ajouter les effets d'autres pressions d'origine anthropique telles que des dégradations d'habitat, des pollutions, des changements climatiques ou encore l'émergence d'espèces invasives ou de pathogènes (Fleming et al., 2006; Merino et al., 2012; Barange et al., 2014). Les espèces

côtières sont particulièrement touchées par ces pressions puisque la frange littorale des 30 km abrite environ 20 % de la population mondiale (Cohen et al., 1997). Ainsi, les espèces strictement côtières (par exemple inféodées à de faibles profondeurs) sont très vulnérables, et les stocks de nombre d'entre elles sont aujourd'hui effondrés. Parmi ces organismes côtiers, de nombreuses espèces de mollusques sont menacées. Ceci est par exemple le cas de l'huître *Crassostrea virginica* aux USA (Rick et Lockwood, 2012), ou encore de la grande nacre de Méditerranée *Pinna nobilis* (Öndes et al., 2020).

Afin de pallier la raréfaction des ressources marines sauvages, de nombreuses dispositions ont été prises à l'échelle mondiale. Celles-ci comprennent notamment des politiques de gestion des pêcheries, et la mise en place de programmes d'aquaculture, qui offrent une alternative aux produits issus de la pêche. Aujourd'hui, environ 50 % du tonnage global de ressources aquatiques consommées par l'humain provient d'élevage (Rapport FAO, 2020). En parallèle, d'autres initiatives sont expérimentées à travers le monde pour reconstituer des populations sauvages jusqu'alors effondrées, et ainsi permettre le retour des activités de pêche (Bell et al., 2008). La France a mis en place de tels programmes sur plusieurs espèces commerciales. Par exemple, après l'effondrement de la pêcherie de coquilles Saint-Jacques (*Pecten maximum*) de rade de Brest en 1963, des programmes d'élevage en écloserie pour une implantation des juvéniles dans l'environnement naturel ont permis de maintenir un taux de capture économiquement viable (Morvezen et al., 2016a).

Pour la première fois, la possibilité d'appliquer ce genre de pratiques à l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*) pour plusieurs sites de Bretagne et de Normandie est sérieusement envisagée par la filière pêche. En effet, comme la plupart des espèces commerciales du genre *Haliotis*, les stocks de l'ormeau européen se sont partiellement effondrés ces dernières décennies (Nicolas et al., 2002).

2. Présentation du genre *Haliotis*

2.1. Phylogénie et phylogéographie du genre *Haliotis*

Les ormeaux sont des mollusques marins appartenant à la classe des gastéropodes. Ils sont les seuls représentants de la famille des Haliotidae et du genre *Haliotis*, inclus dans la sous-classe des Vetigastropodes (Figure 2A) (Geiger et Owen, 2012). Le genre *Haliotis* regroupe *a minima* 55 espèces distinctes, réparties dans les eaux tempérées et subtropicales de tous les continents, hormis l'Antarctique (Figure 2B) (Geiger et Owen, 2012; Worms, 2021). Le nom de genre *Haliotis*

se réfère à la forme de la coquille des ormeaux et est constitué de la contraction des mots grecs halos (mer) et otos (oreille) (Clavier, 1987).

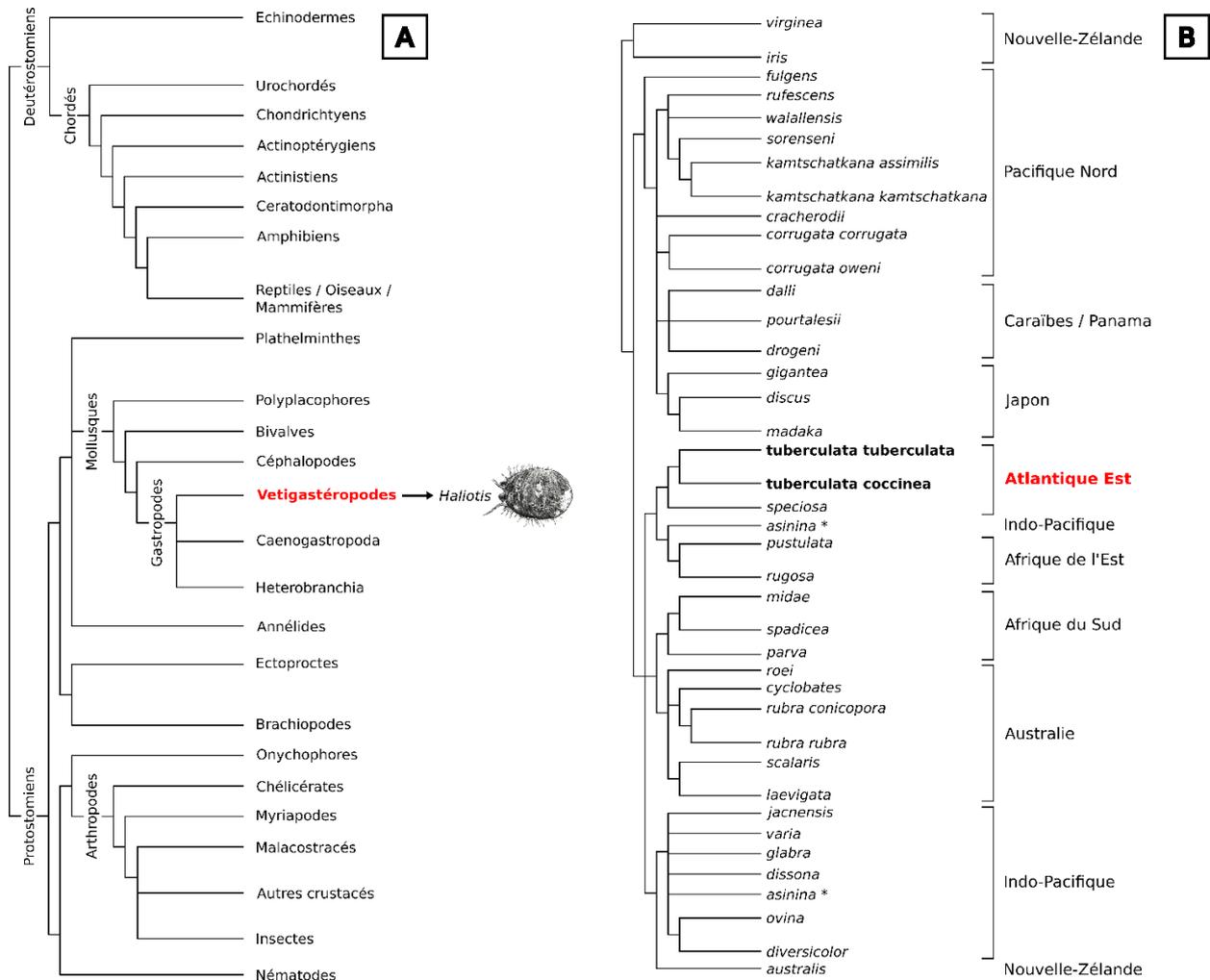


Figure 2 : A) Cladogramme simplifié de taxons communs, réalisé sur la base de données morphologiques et génétiques (adapté de Hooper et al., 2007). B) Arbre phylogénétique représentant les relations phylogénétiques des espèces du genre *Haliotis*. * indique un placement non fixé pour l'espèce *Haliotis asinina* (adapté de Geiger et Owen, 2012).

Aucune espèce d'ormeau ne montre de distribution à l'échelle mondiale, chacune étant associée à une écorégion donnée et ainsi inféodée à une aire géographique propre. Les ormeaux se seraient différenciés des autres Vetigastropodes il y a 200 à 500 millions d'années. D'un point de vue phylogénétique, il apparaît que la colonisation des régions qui abritent aujourd'hui des ormeaux s'est faite de proche en proche, à partir d'une population ancestrale. Il y a actuellement trois hypothèses pouvant expliquer l'évolution biogéographique des ormeaux, qui ont été proposées et discutées par Geiger et Owen (2000). Elles sont résumées dans la Figure 3.

La première suggère que le genre *Haliotis* pourrait provenir du Japon puisqu'il se serait dispersé en direction du nord-ouest et du nord-est du Pacifique. Les bases de cette première hypothèse n'ont cependant jamais été clairement explicitées (Figure 3A).

Selon une seconde hypothèse, la zone où la diversité spécifique actuelle est maximale (la zone indomalaise) correspondrait à l'origine du genre *Haliotis* (Figure 3B). Dès lors, toutes les espèces actuelles se seraient formées après dispersion de proche en proche à partir de cette zone initiale. Geiger et Owen (2012) estiment que cette hypothèse est la plus probable des trois.

Enfin, une troisième hypothèse basée sur des données chromosomiques (c'est à dire nombre de paires de chromosomes) suggère que les ormeaux proviendraient initialement de la partie de la Mer Téthys qui compose actuellement la Méditerranée. L'espèce ancestrale, aujourd'hui représentée par *Haliotis tuberculata* ($2n = 28$) se serait ensuite déplacée vers la zone indopacifique ($2n = 32$), pour finalement atteindre le Pacifique nord ($2n = 36$) (Figure 3C).

2.2. Diversité du genre *Haliotis* en Europe

Une sous-espèce peut être définie comme un ensemble de populations occupant une aire de reproduction distincte qui leur confère un phénotype héritable et différent de celui d'autres populations du même type (Pattern, 2015). Ainsi, pour chaque sous-espèce, il peut y avoir un gène ou un groupe de gènes qui détermine le phénotype des individus dans une aire géographique particulière (Pattern, 2015).

En Europe et en Afrique du nord, le genre *Haliotis* est représenté par une seule espèce, l'ormeau européen *Haliotis tuberculata*, qui se divise en trois sous-espèces, *H. tuberculata tuberculata*, *coccinea* et *lamellosa* (Figure 4) (Mgaya et Mercer, 1994). Celles-ci ont été différenciées avec certitude à partir d'études génétiques (Van Wormhoudt et al., 2009; Roussel et Van Wormhoudt, 2017). D'une part, la sous-espèce *H. tuberculata lamellosa* présente un caryotype différent de *H. tuberculata tuberculata* (Geiger et Owen, 2012). D'autre part, *H. tuberculata coccinea* se distingue de *H. tuberculata tuberculata* par des différences dans la séquence codant pour le gène de la lysine (Van Wormhoudt et al., 2009). Dans le cadre de ce travail de thèse, seule la sous-espèce *Haliotis tuberculata tuberculata* sera étudiée. Les 3 sous-espèces de *H. tuberculata* ont des aires de répartition distinctes, qui s'étendent de la Normandie au Sénégal, en passant par les Açores et les Canaries (Geiger et Owen, 2012).

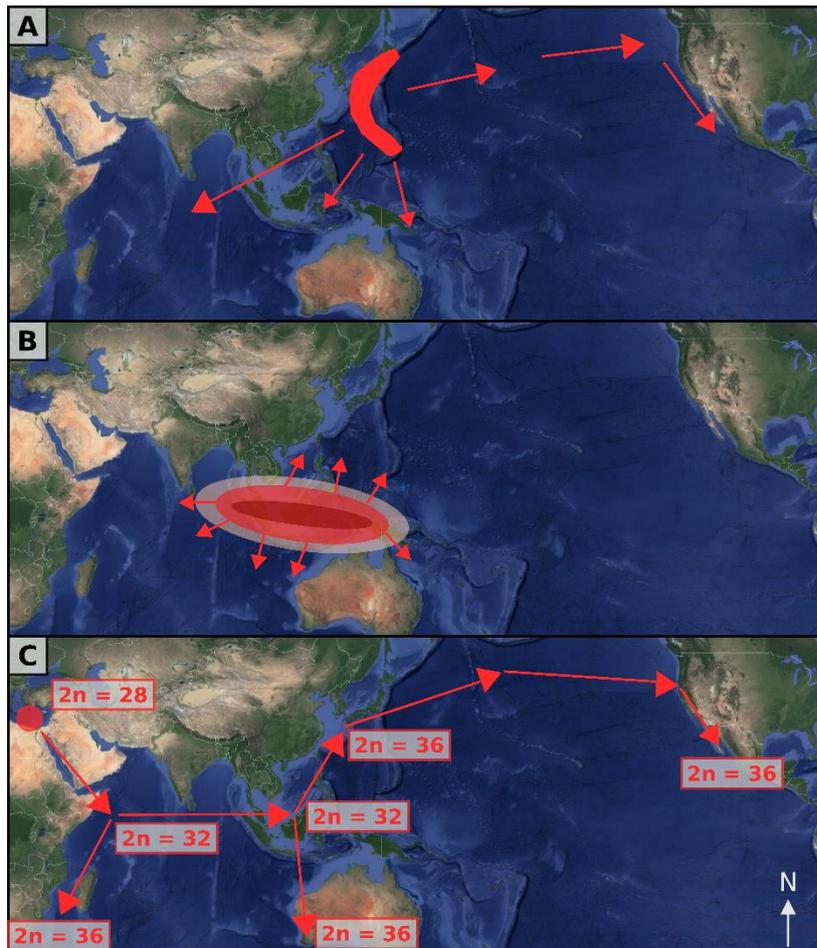


Figure 3 : Représentation de trois hypothèses biogéographiques de l'évolution des *Haliotidae*. A) Hypothèse 1. Origine au Japon puis dispersion vers le Pacifique B) Hypothèse 2. Origine dans la zone Indomalaise puis dispersion à partir de cette zone initiale C) Hypothèse 3. Origine dans la partie Méditerranéenne de la mer Téthys puis extension vers l'Indopacifique et le Pacifique nord (Adapté de Geiger et Owen, 2000).

La sous-espèce *H. tuberculata tuberculata* est répartie le long de la côte atlantique française, et plus particulièrement en Bretagne/Normandie (Figure 4). Il est à noter qu'elle est absente des côtes de Grande-Bretagne (Clavier, 1987). La sous-espèce *H. tuberculata lamellosa* est quant à elle localisée en mer Méditerranée (Geiger et Owen, 2012). Enfin, *H. tuberculata coccinea* est distribuée de la mer Cantabrique jusqu'au nord des côtes atlantiques africaines ainsi qu'aux Canaries et aux Açores (Roussel et Van Wormhoudt, 2017).

Une enquête menée en 2021 et détaillée dans la suite de ce manuscrit montre que l'aire de répartition actuelle de *H. tuberculata tuberculata* est moins étendue qu'autrefois et qu'elle se limite aujourd'hui à la Bretagne, la Normandie et aux îles Anglo-Normandes (Figure 4).

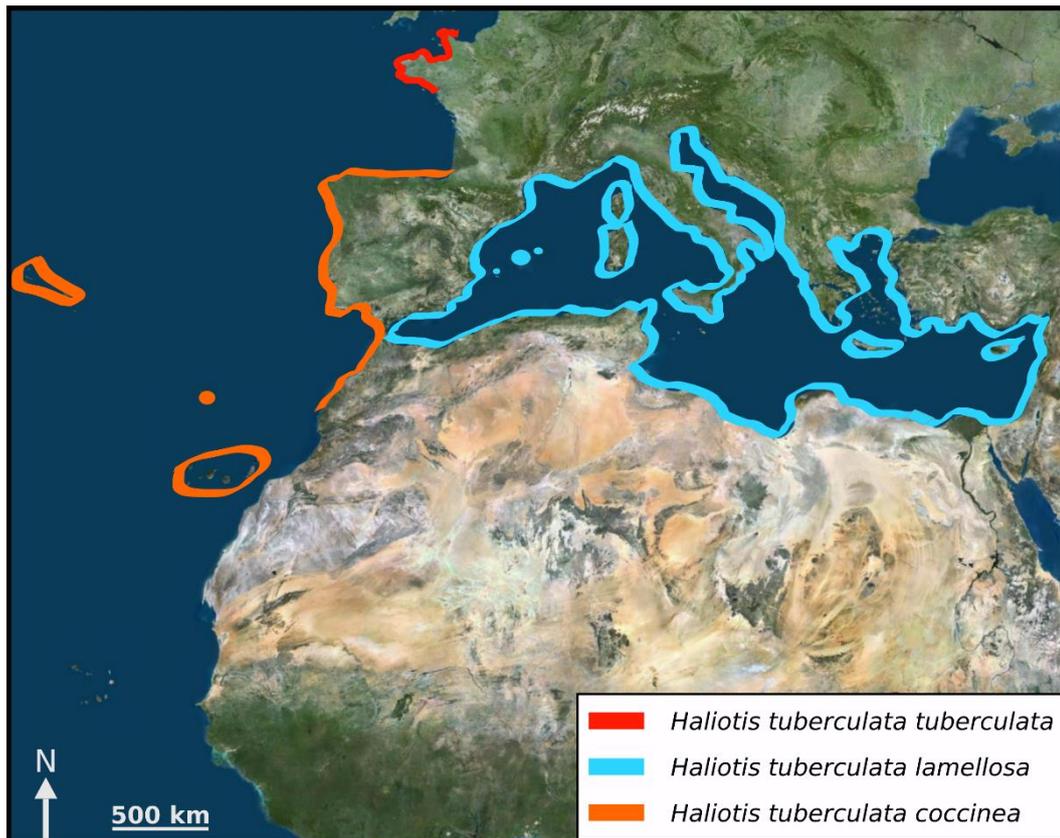


Figure 4 : Représentation cartographique des aires de répartition des trois sous espèces de *Haliotis tuberculata*.

3. Ecologie, physiologie et comportement de l'ormeau européen *Haliotis tuberculata*

3.1. Anatomie interne et externe

3.1.1. Coquille et pied

L'ormeau européen possède une coquille aplatie, de forme ovoïde, sécrétée par le manteau et composée d'une couche interne de nacre et d'une couche externe (le periostracum), toutes deux constituées de carbonate de calcium (CaCO_3), incorporé dans une matrice organique (Figure 5) (Auzoux-Bordenave et al., 2010). Cette coquille est percée de plusieurs orifices (trous exhalants), qui apparaissent selon l'axe de croissance, puis se bouchent au fur et à mesure de la croissance, de telle sorte que 4 à 8 trous restent en général ouverts en permanence. Ces orifices permettent la respiration, l'excrétion des déchets azotés, l'élimination des fèces et l'émission des gamètes en période de reproduction (Figure 5) (Clavier, 1987; Richard, 1988).

La coquille est attachée au corps de l'ormeau par un muscle adducteur, qui appartient au pied (Figure 6) (Richard, 1988). Le pied de l'ormeau est large et musclé, il représente généralement plus de 40 % du poids frais total d'un individu adulte (Clavier, 1987; Lachambre, 2017). Il est entouré d'un épipodium garni de tentacules épipodiaux sensoriels et de deux tentacules céphaliques à proximité des yeux (Basuyaux, 1997; Le Petit, 2009). La partie ventrale du pied forme la sole pédieuse. Celle-ci est en contact avec le substrat et permet le déplacement, qui est facilité par la production de mucus (Richard, 1988; Le Petit, 2009). De plus, cette sole pédieuse, couplée aux nombreuses fibres musculaires du pied, permet à l'ormeau de s'ancrer solidement au substrat. En effet, elle est composée de soies de quelques micromètres qui se terminent par des fibrilles cylindriques d'un diamètre de l'ordre du nanomètre (Lin et al., 2009). Ces dernières se lient avec le substrat en faisant intervenir des liaisons de type Van der Waals (Li et al., 2018). De plus, la force d'attachement augmente lorsque l'humidité est forte (par exemple sous l'eau), puisque des interactions capillaires s'ajoutent aux liaisons de Van der Waals (Lin et al., 2009). Le pied de l'ormeau fait également office de réserves énergétiques puisqu'il contient une forte proportion de glycogène et de protéines, qui peuvent être remobilisés si besoin, notamment au cours de la gamétogénèse, de la reproduction, ou pour pallier un épisode de déficit alimentaire (Clavier, 1987; Carefoot et al., 1993; Le Petit, 2009).



Figure 5 : Présentation des faces externes et internes de la coquille de l'espèce *Haliotis tuberculata* (coquilles de 65 mm). A) Face externe avec le periostracum. B) Face interne nacrée.

3.1.2. Tête et masse viscérale

La tête de l'ormeau est située au-dessus de l'épipodium, au niveau des deux tentacules céphaliques décrits précédemment. Elle comporte deux yeux simples, qui sont des invaginations remplies d'un corps vitré (Figure 6) (Le Petit, 2009). La tête possède également une bouche dans

laquelle se trouve une radula. Cette radula est composée d'une bande chitineuse à laquelle sont attachées de dents de chitine, qui se développent durant les premiers mois de vie (Travers, 2008; Geiger et Owen, 2012). Ainsi, cette radula sert à brouter des microalgues et/ou des biofilms bactériens dans un premier temps, puis des micro et macroalgues une fois les dents développées, après 3 à 4 mois (Geiger et Owen, 2012).

Le reste des tissus mous de l'ormeau est localisé autour de la colonne musculaire du pied. La masse gonadique peut occuper une place importante en fonction de son stade de maturation (jusqu'à 10 % du poids frais pour un ormeau adulte), et s'insère autour de la glande digestive (Figure 6) (Lachambre, 2017). Ainsi, lorsque les gonades sont développées, elles recouvrent la quasi-totalité de la glande digestive (qui est de couleur marron) et permettent de différencier les ormeaux mâles et femelles (Mgaya et Mercer, 1994). En effet, bien qu'il existe des nuances dans leurs colorations, les gonades mâles sont généralement blanc crème alors que les gonades femelles ont une teinte gris-vert (Clavier, 1987; Lachambre, 2017).

Les tissus restants sont composés du système digestif (bouche, œsophage, estomac, glande digestive et anus), du cœlome, des branchies, des reins, du cœur et du manteau (Figure 6) (Le Petit, 2009). Le système digestif débute par la bouche, qui est directement reliée à l'œsophage, dans lequel la nourriture va être acidifiée en amont de la digestion grâce à la production des glandes salivaires (Travers, 2008). Le système digestif se poursuit par une glande digestive composée de l'estomac et de la masse viscérale (intestin puis rectum). Enfin, il se termine par un anus, positionné en avant, à proximité des branchies, du fait de la torsion primitive des gastéropodes (Le Petit, 2009).

Le cœlome est relativement réduit et est composé d'une cavité péricardique et des cavités des gonades et des reins (Figure 6) (Travers, 2008). La cavité péricardique abrite le cœur, qui jouxte la glande digestive et se compose de deux auricules et d'un ventricule (Le Petit, 2009). Ce cœur permet de mettre en circulation l'hémolymphe de manière diffuse dans un système ouvert qui irrigue le corps de l'ormeau. L'hémolymphe est de couleur bleue car elle contient de l'hémocyanine, qui est un transporteur de l'oxygène. Une fois désoxygénée, l'hémolymphe passe par le rein droit qui élimine les déchets amoniaux (Le Petit, 2009). Ensuite, elle est renvoyée vers les branchies (Figure 6) (Lachambre, 2017). Les branchies sont irriguées en eau manière passive, ce qui rend l'ormeau relativement sensible à des diminutions de la saturation en oxygène dans l'eau. Le manteau participe également au processus de respiration. En effet, il est fortement vascularisé, ce

qui favorise l'oxygénation de l'hémolymphe (Travers, 2008). De plus, le manteau entoure la cavité palléale qui contient notamment les branchies (Figure 6). Ainsi, en cas d'exondation il permet la rétention d'un volume d'eau significatif, ce qui favorise les échanges gazeux (Lachambre, 2017).

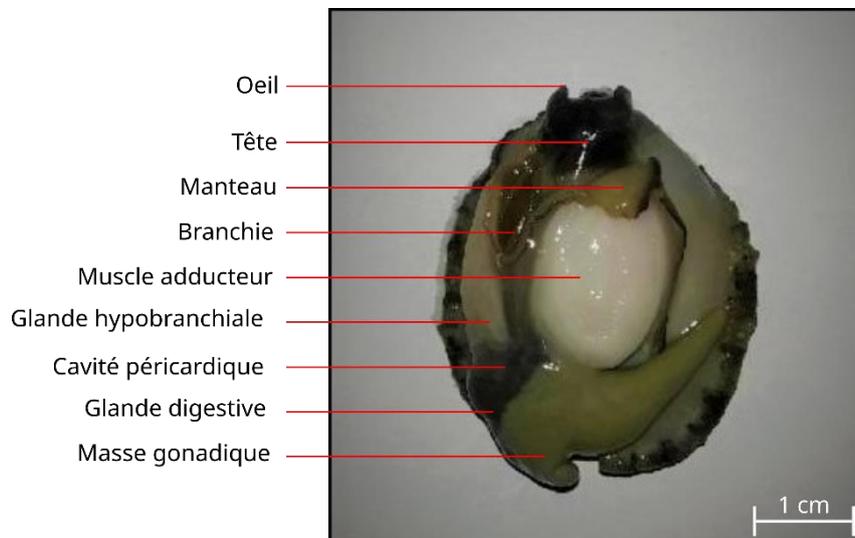


Figure 6 : Photographie d'un ormeau (*Haliotis tuberculata*) décoquillé en vue ventrale et visualisation des différents tissus mous.

3.2. Cycle de vie, croissance, alimentation, habitat et comportement

3.2.1. Cycle de vie

Gamétogénèse

L'ormeau européen est gonochorique, bien que de rares cas d'hermaphrodisme juvénile aient été rapportés par Cochard (1980). Dans le milieu naturel, le sex-ratio est proche de 1 : 1 (Cochard, 1980; Richard, 1988), comme c'est le cas chez la plupart des espèces d'ormeaux (Sloan et Breen, 1988). Il n'existe pas de dimorphisme sexuel chez *H. tuberculata*, et seules les gonades permettent de différencier mâles et femelles (Girard, 1972; Clavier, 1987). D'après la synthèse bibliographique de Mgaya et Mercer (1994), les individus mâles atteindraient leur maturité sexuelle plus tôt que les femelles, vers 2 ans et 25 - 40 mm de longueur coquillère, contre 3 ans et 38 - 54 mm pour les femelles.

Comme indiqué précédemment, les gonades de l'ormeau ensèrent la glande digestive (Mgaya et Mercer, 1994). La gamétogénèse débute à partir du mois d'avril selon six stades de développement communs aux 2 sexes : 1) pré-prolifératif, 2) prolifératif, 3) développement avancé, 4) mature, 5) ponte partielle et 6) ponte totale (Sobhon, 1999). Le sexe des individus et le

stade de développement de leurs gonades peuvent être évalués visuellement et de manière non-invasive en fonction de leur couleur et de leur gonflement (Figure 7) (Cochard, 1980).

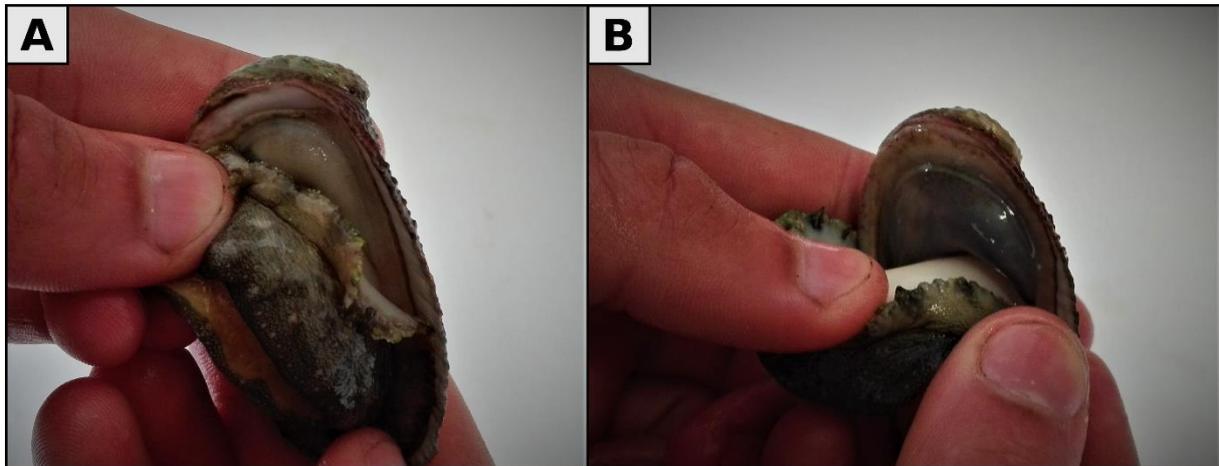


Figure 7 : Exemples de l'évaluation non-invasive du sexe et du stade de développement gonadique chez des individus de *Haliotis tuberculata* âgés de 4 ans. A) Individu mâle caractérisé par une masse gonadique de couleur blanc crème. B) Individu femelle ayant une masse gonadique de couleur vert sombre.

Les quatre premiers stades de développement s'étendent jusqu'à juin. Ils sont succédés par la période de ponte qui dure jusqu'en septembre. Les gonades entrent alors en phase de repos jusqu'en mars de l'année suivante (Le Petit, 2009). La vitesse du développement des gonades est modulée par plusieurs facteurs externes, tels que la photopériode et la température de l'eau de mer, mais aussi dans une moindre mesure par la qualité et la quantité de nourriture ingérée (Clavier, 1987; Lachambre, 2017; Roussel et al., 2019). Ainsi, dans le milieu naturel, une somme de 1400 degrés jours au-delà du 0 biologique de l'espèce, fixé à 7 °C, est nécessaire pour arriver au stade 5 du développement (Travers, 2008). Etant donnée la forte variabilité des conditions environnementales et biologiques au niveau de l'aire de répartition de *H. tuberculata tuberculata* (c'est à dire en Bretagne et Normandie), il existe des différences dans la vitesse de maturation des gamètes entre les différentes populations d'ormeaux (Mgaya et Mercer, 1994). Enfin, la quantité de gamètes produite est proportionnelle à la taille des individus : plus un individu est grand et lourd, plus il produit de gamètes (Lachambre, 2017). A titre d'exemple, une femelle de 7,6 cm peut pondre environ 500 000 ovocytes, une femelle de 10,5 cm peut en pondre plus d'un million et une femelle de 11,5 cm peut en pondre 5 millions (Girard, 1972).

Ponte

La ponte de *H. tuberculata* en Bretagne et en Normandie s'étale *a minima* sur 4 mois, de juin à septembre (Mgaya et Mercer, 1994). Elle n'est pas synchronisée à l'échelle de l'aire de répartition de l'espèce, principalement du fait des différences de conditions environnementales évoquées précédemment (Cardinaud, 2013). En revanche, au sein d'un même site, les différents épisodes de ponte qui surviennent tout au long de la saison sont synchronisés (Belhsen, 2000).

La ponte peut être induite par des stimulations environnementales comme une élévation de la température de l'eau, l'action des vagues, la photopériode ou encore le cycle lunaire (Cochard, 1980; Mgaya et Mercer, 1994; Bilbao et al., 2012; Geiger et Owen, 2012). Ce sont généralement les mâles qui pondent en premier (Le Petit, 2009). Ensuite, la présence de leurs spermatozoïdes dans l'eau couplée à des molécules qu'ils émettent induit la ponte des femelles. Des reproducteurs assez nombreux et de taille suffisante dans un périmètre restreint, et la synchronisation de l'émission de leurs gamètes sont nécessaires pour maximiser le taux de fécondation des œufs (Clavier, 1987; Mgaya et Mercer, 1994).

Développement larvaire

Après l'émission des gamètes, la fécondation a lieu dans l'eau de mer. Les œufs fécondés tombent au fond du fait de leur densité. Ils subissent une succession de divisions mitotiques qui amènent en quelques heures à la formation des stades embryonnaires successifs *morula*, *blastula* et *gastrula* (Figure 8) (Cardinaud, 2013). La fin de la phase embryonnaire survient après 24 h et est marquée par l'éclosion de la larve et son évolution vers un mode de vie pélagique avec un premier stade trochophore, qui correspond à une larve ciliée en forme de toupie et lécithotrophe (Cardinaud, 2013). Ensuite, cette larve trochophore évolue en larve véligère qui conserve sa capacité à déplacer dans la colonne d'eau et qui nage généralement vers la surface (phototropisme) (Figure 8) (Clavier, 1987; Mgaya et Mercer, 1994; Cardinaud, 2013).

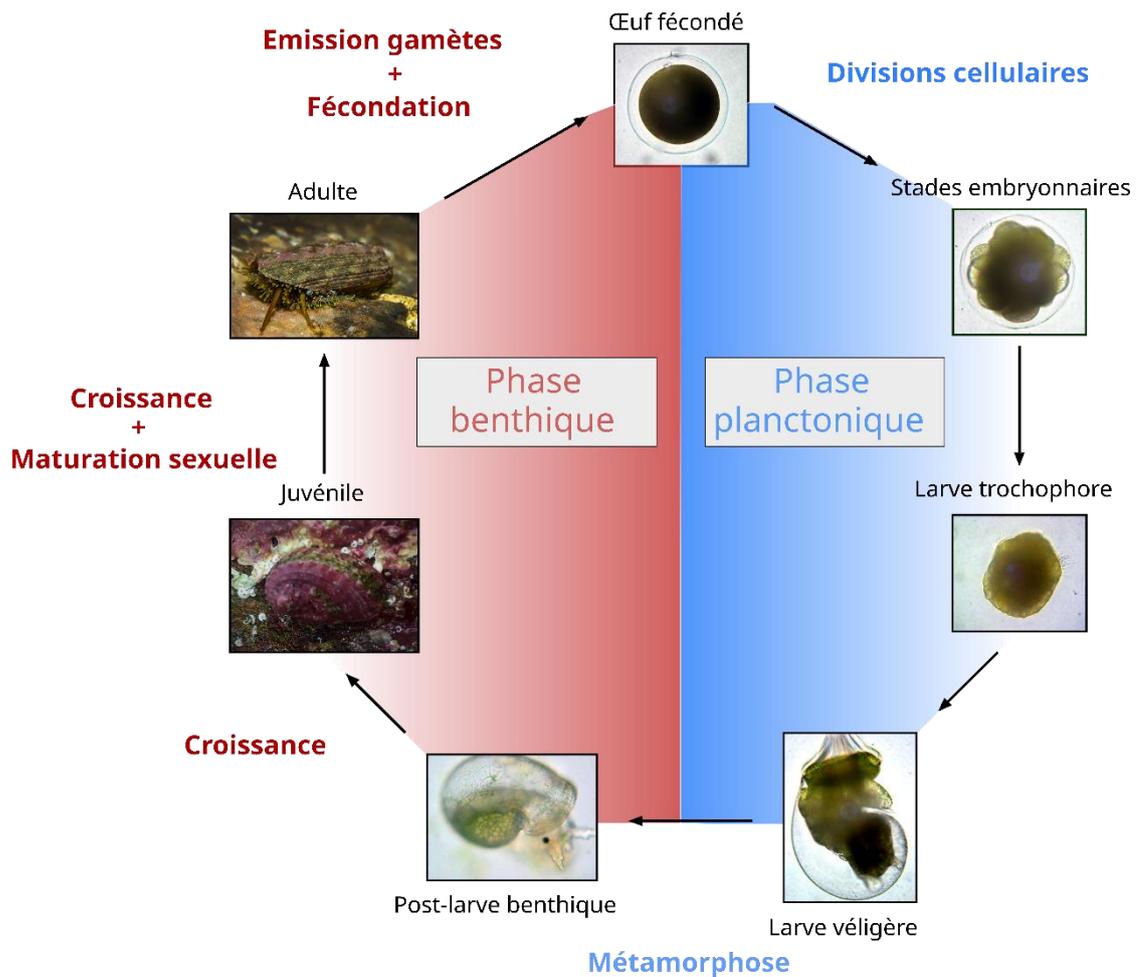


Figure 8 : Cycle de développement de l'ormeau européen *Haliotis tuberculata*. Adapté de Cardinaud, 2013. © Erwan Amice pour les photographies des phases juvénile et adulte.

Cette phase dure quelques jours pendant lesquels le pied, les tentacules épipodiaux, le cœur, les yeux et la coquille larvaire se développent (Cardinaud, 2013). Au total, la phase larvaire pélagique dure entre 3 et 6 jours, cette durée étant modulée par la température ambiante. A la fin de cette période, la larve devient pédivéligère et perd ses cils et développe fortement son pied. Cette larve commence alors à se diriger vers le fond (Mgaya et Mercer, 1994; Basuyaux, 1997). Il est probable que des signaux biochimiques produits par des algues rouges encroûtantes (par exemple le GABA, acide gamma aminobutyrique), ou par le mucus d'autres ormeaux (contenant également du GABA), soient à l'origine de ce comportement (Travers, 2008; Aguirre et McNaught, 2011; Geiger et Owen, 2012). Lorsqu'elle se pose sur le fond, la larve subit une métamorphose et sa phase de vie post-larvaire benthique débute (Figure 8) (Clavier, 1987; Lachambre, 2017). Dès lors, elle peut se déplacer sur le fond à l'aide de son pied et s'alimenter sur des biofilms bactériens,

ainsi que sur des microalgues à partir de 85 - 90 jours (taille de 3,1 – 3,3 mm), à l'aide de sa radula (Mgaya et Mercer, 1994; Cardinaud, 2013).

Dispersion larvaire

La phase larvaire pélagique est l'unique période pendant laquelle les ormeaux peuvent être dispersés sur de grandes distances (plusieurs km), et ainsi traverser des étendues de sédiments fins (Forster et al., 1982; Shepherd et al., 1992). En effet, le phototropisme des larves pélagiques leur permet de migrer dans la colonne d'eau en s'intégrant en tant que particules passives aux mouvements des masses d'eau, ce qui assure leur dispersion (Clavier, 1987; DeFreitas, 2005). Néanmoins, bien qu'elle puisse atteindre plusieurs km lors de tempêtes ou de forts coefficients de marées, la dispersion larvaire des ormeaux est généralement limitée à quelques centaines de mètres, ce qui est relativement faible par rapport à d'autres espèces d'invertébrés marins (Shepherd et al., 1992; Geiger et Owen, 2012; Stierhoff et al., 2012). En effet, la topographie du fond et la présence de macroalgues limitent généralement la dispersion larvaire des ormeaux (Shepherd et al., 1992). De plus, comme la phase larvaire pélagique des ormeaux est courte (3 à 6 jours), cela limite la dispersion par rapport à d'autres mollusques ayant une phase larvaire plus longue, de l'ordre de plusieurs semaines (Clavier, 1987). Clavier (1987) estime que les flux de larves entre différents sites à ormeaux séparés de plusieurs km sont très aléatoires et irréguliers, tant la dispersion dépend des conditions météorologiques du moment. Une fois les ormeaux métamorphosés, ils ne s'éloigneront généralement pas de plus de quelques centaines de mètres de leur site de fixation, étant donnée leur faible mobilité (Clavier et Richard, 1984).

3.2.2. Croissance

La croissance des ormeaux sauvages peut être estimée par l'analyse de distribution des fréquences de tailles d'une population, la lecture de stries de croissance, un processus de capture-marquage-recapture et par l'analyse de la coquille avec des isotopes stables de l'oxygène (Forster, 1967; Cochard, 1982; Clavier et Richard, 1986; Roussel et al., 2011).

Les variations des dates de fixation des larves et les disparités des vitesses de croissance rendent l'appréciation des cohortes difficile, et ce à toutes les tailles (Clavier, 1987; Basuyaux, 1997). L'analyse de la croissance annuelle par la distribution des fréquences de tailles d'une population en est donc très complexe voire impossible. Les opérations de capture-marquage-recapture offrent une bonne estimation de la croissance des ormeaux entre deux captures mais

ne permettent pas d'estimer précisément l'âge des individus (Forster, 1967). De plus, la capture et le marquage entraînent un stress important, qui peut impacter la croissance de l'animal (Lachambre, 2017).

Plusieurs auteurs ont estimé l'âge et la croissance d'ormeaux sauvages par la lecture de leurs stries de croissance (Forster, 1967; Richard, 1988; Clavier, 1987; Shepherd et al., 1995; Shepherd et Avalos-Borja, 1997). L'ormeau étant ectotherme, son activité est minimale pendant les mois d'hiver. Il en résulte des modifications qualitatives et quantitatives de la genèse de sa coquille, caractérisées par la formation de stries d'arrêt de croissance (Clavier, 1987). Cette technique se base donc sur la localisation et le comptage de ces stries hivernales d'arrêt de croissance. Cependant, Clavier (1987) met en exergue le fait que ces stries peuvent également être créées suite à un arrêt de croissance estival lié à la reproduction, ou consécutif à une perturbation (par exemple prédation ou déficit alimentaire). Dès lors, il apparaît que le positionnement des stries hivernales d'arrêt de croissance est bien souvent subjectif (Roussel et al., 2011). À titre d'exemple, la figure 9 présente une coupe transversale réalisée dans une coquille d'un individu de *H. tuberculata* d'élevage âgé de 4 ans. Il est possible d'y localiser plus de 9 stries alors même que ce jeune individu n'était probablement mature sexuellement que depuis une à 2 années. Ainsi, en théorie on devrait observer 6 stries comprenant 4 stries hivernales et 2 stries dues aux périodes de maturation sexuelle.

Une dernière méthode développée dans Roussel et al. (2011) se base sur l'analyse de la composition isotopique de l'oxygène présent dans la coquille ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$). Elle permet de reconstituer les variations saisonnières de la température de l'eau et ainsi de localiser les hivers sur la coquille. En revanche, cette méthode est relativement coûteuse et donc difficilement applicable à des études de large ampleur.

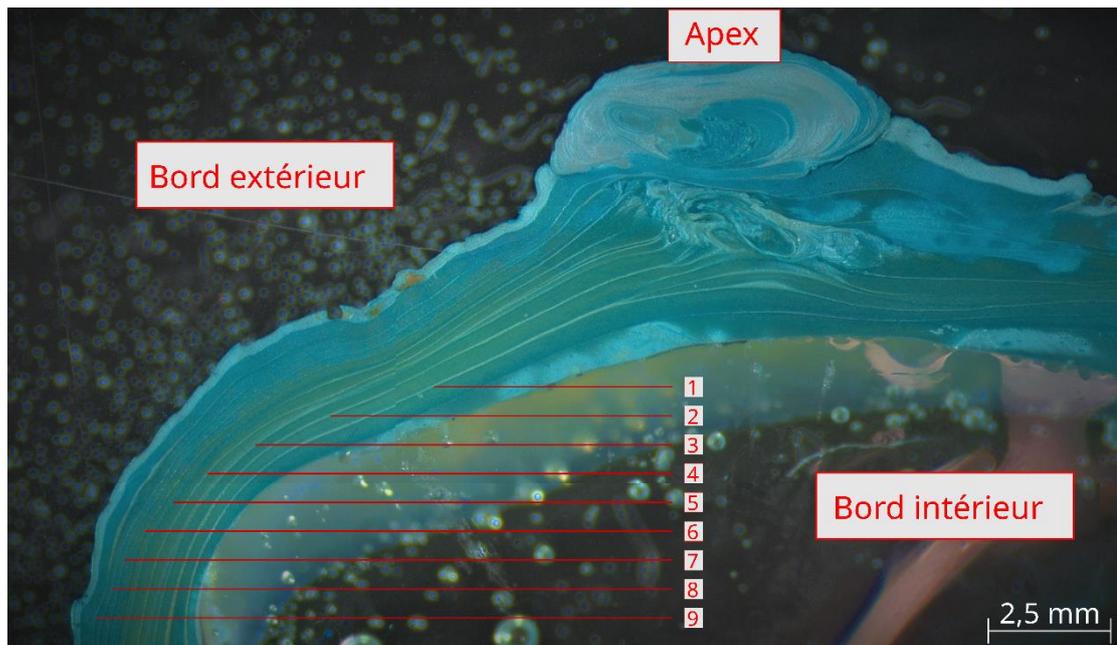


Figure 9 : Photographie d'une coupe transversale de la coquille d'un ormeau (*Haliotis tuberculata*) âgé de 4 ans et issu de la ferme aquacole France Haliotis. Les stries d'arrêt de croissance visibles ont été numérotées (de 1 à 9) (©Pierre Chauvaud et Julien Thébault).

Comme chez tous les mollusques, la coquille de *H. tuberculata* croît tout au long de sa vie, avec des vitesses de croissance variables au cours de l'année (Basuyaux, 1997). Dans la région de Saint-Malo, Clavier et Richard (1986) ont détecté des juvéniles de *H. tuberculata* probablement âgés de 3 - 4 mois dont la coquille mesurait 3 mm. Ils ont estimé que ces mêmes individus mesureraient environ 10 mm après une année de croissance. Enfin, toujours d'après cette étude, le taux de croissance augmenterait jusqu'à 2,5 ans (35 mm de longueur) puis diminuerait de manière continue par la suite. Une autre étude menée par Forster (1967) estime que le taux de croissance de *H. tuberculata* est de 15 mm par an jusqu'à 50 mm puis qu'il décroît jusqu'à devenir très faible au-delà de 100 mm. Ainsi, la croissance de l'ormeau est relativement lente puisqu'il est généralement admis qu'il faut *a minima* 5 années pour qu'un ormeau sauvage atteigne la taille de 80 mm (Cochard, 1982; Clavier, 1987). L'ormeau européen a une espérance de vie d'au moins 15 ans pour une taille maximale pouvant dépasser 135 mm et atteindre exceptionnellement 150 mm (Richard, 1988; Basuyaux, 1997; Poitevin, communication personnelle, 2017).

La croissance de l'ormeau est discontinue à l'échelle de l'année. En effet, 70% de la croissance a lieu pendant les mois les plus chauds, de mai à novembre (Clavier et Richard, 1986). De plus, comme évoqué précédemment, le taux de croissance décroît lorsque l'animal dépasse 35-50 mm (Forster, 1967; Clavier, 1987; Roussel et al., 2011). Ceci est dû au fait qu'à cette taille les

ormeaux sont sexuellement matures et qu'au printemps et à l'été, une partie importante de l'énergie qu'ils absorbent est consacrée à la gamétogénèse et à la reproduction (Richard, 1988; Mgaya et Mercer, 1994). Enfin, la croissance des ormeaux est également modulée par les conditions environnementales telles que la disponibilité alimentaire, la température, l'exposition à la houle, puisque ces facteurs contrôlent tout ou partie de la quantité d'énergie pouvant être allouée à la croissance (Mgaya et Mercer, 1994; Prince et al., 2008; Saunders et al., 2009 ; Roussel et al., 2011).

3.2.3. Alimentation

L'ormeau européen est une espèce herbivore dont l'alimentation évolue au fur et à mesure du développement (Clavier, 1987). Les post-larves benthiques commencent par s'alimenter sur des films bactériens ou des microalgues benthiques et ce jusqu'à mesurer plusieurs mm. À ce stade, leur radula n'est pas encore suffisamment développée pour consommer des macroalgues (Geiger et Owen, 2012). Une fois que la radula est complètement fonctionnelle, c'est-à-dire quand la coquille des ormeaux mesure 3 - 4 mm, ils commencent à s'alimenter sur des macroalgues brunes, rouges et vertes (Travers, 2008; Strain et Johnson, 2010; Roussel et al., 2020). En laboratoire, lorsque le choix leur est donné, des individus d'élevage de 4 ans s'alimentent préférentiellement sur des espèces d'algues rouges et vertes dont la fronde est tendre et riche en protéines, en comparaison à des algues brunes et rouges plus épaisses (Galland-Irmouli et al., 1999; Roussel et al., 2020). Il est intéressant de noter que ce ne sont pas nécessairement les algues les plus intéressantes d'un point de vue nutritionnel global qui sont ingérées préférentiellement (Roussel et al., 2020). En élevage, l'algue rouge *Palmaria palmata* est l'espèce qui permet d'obtenir une croissance maximale, en dépit de son appétence moindre par rapport à d'autres espèces (Basuyaux et al., 2018). Ainsi, les ormeaux orienteraient leurs choix en fonction du contenu protéique des algues mais également de leur texture, qui peut agir sur les facilités d'ingestion (Roussel et al., 2020).

Les ormeaux broutent préférentiellement des algues fixées mais ils peuvent également se nourrir d'algues dérivantes (Clavier, 1987; Richard, 1988). Ils ingèrent 10 à 20 % de leur masse en algues chaque jour (Basuyaux, 1997). Ainsi, la quantité et la qualité des algues présentes dans un milieu donné a un effet direct sur la capacité d'accueil de ce milieu, ainsi que sur la dynamique de croissance des ormeaux qui s'y trouvent (Clavier et Chardy, 1989).

3.2.4. Habitat

L'habitat peut être décrit comme une aire géographique ayant des paramètres environnementaux homogènes à une échelle d'observation donnée et au sein de laquelle des espèces particulières peuvent assurer leur cycle biologique (Le Hir et Hilly, 2005; Costello, 2009). L'habitat de *H. tuberculata tuberculata* n'a, à ce jour, pas été caractérisé avec précision, en particulier pour le stade juvénile. Il existe néanmoins plusieurs travaux descriptifs qui permettent de dresser une liste des principales caractéristiques de celui-ci (Forster, 1962; Richard, 1988; Clavier et Chardy, 1989). À travers le monde, les différentes espèces d'ormeaux vivent sur des fonds durs ou à forte granulométrie (c'est à dire des galets au sable grossier, sur lesquels reposent des blocs). De plus, les individus peuvent être exposés ou localisés dans des failles, des grottes et sous des blocs rocheux (Forster, 1962; Shepherd et Turner, 1985; Richard, 1988; Peck et Culley, 1990; Geiger et Owen, 2012). Cela leur permet de s'abriter des prédateurs et de s'ancrer solidement au substrat avec leur pied (Mgaya et Mercer, 1994). Plus la structure architecturale de cet habitat est complexe et plus sa capacité d'accueil est importante (Richard, 1988; Clavier et Chardy, 1989).

L'ormeau européen est présent du bas de la zone intertidale jusqu'à -15 m sous le niveau 0 des cartes (Clavier, 1987). En effet, il est inféodé à la zone photique puisque l'habitat doit offrir des algues encroûtantes de la famille des corallinacées, qui favorisent la fixation des larves sur le substrat puis leur métamorphose, et des macroalgues dressées en quantité suffisante pour satisfaire les besoins en nourriture des ormeaux dans leurs stades de développement successifs (Clavier et Chardy, 1989; Mgaya et Mercer, 1994; Stierhoff et al., 2012). De plus, Clavier et Chardy (1989) soulignent que la courantologie et l'exposition à la houle jouent un rôle prépondérant dans la répartition des ormeaux, avec des densités qui diminuent lorsque le courant et/ou la houle sont trop intenses ou à l'inverse trop faibles. En revanche, les ormeaux ont besoin d'un milieu bien oxygéné, avec une salinité stable et supportent une large gamme de température, allant de 8 à 26 °C (Lachambre, 2017).

3.2.5. Comportement dans le milieu naturel

L'espèce *H. tuberculata* est une espèce nocturne, essentiellement cryptique en journée où elle reste camouflée sous des blocs, dans des grottes ou des failles (Lachambre, 2017). En effet, les ormeaux se déplacent et se nourrissent principalement la nuit (Roussel et al., 2019). C'est une

espèce relativement peu mobile dans le milieu naturel. Clavier et Richard (1984) ont mené une étude en plongée au cours de laquelle ils ont suivi le déplacement d'ormeaux sauvages de toutes tailles (de 25 à 110 mm) pendant 1 an, dans le secteur de Saint-Malo. Ils ont observé que 32 % des individus sauvages étudiés étaient restés stationnaires sur cette période, et que l'amplitude moyenne du déplacement des individus mobiles par rapport à leur point de départ était de 6,7 m. Cependant, cette distance ne comptabilise pas les déplacements potentiels d'allers-retours effectués pendant cette période. De plus, le déplacement quotidien moyen était de 0,2 m pour les individus mobiles. Il est probable que les 32 % stationnaires se nourrissent d'algues dérivantes alors que les autres se déplacent pour aller brouter des macroalgues fixées au substrat.

Les traits comportementaux associés au déplacement des ormeaux sont parfois classifiés en trois catégories : individus « errants » qui changent constamment de place, individus « mobiles » qui se déplacent mais qui reviennent systématiquement au même endroit (*homing*) et individus « sédentaires » qui ne se déplacent pas du tout (Nakamura et Archdale, 2001). Cependant, Clavier (1987) estime que cette classification constitue une simplification extrême et qu'elle ne peut être considérée comme réaliste chez *H. tuberculata*, vu la variabilité temporelle de son comportement. Dès lors, le comportement de déplacement de *H. tuberculata* pourrait être décrit comme variable dans le temps, pouvant osciller entre des phases stationnaires de longue durée et des phases de déplacement accru, le tout étant influencé par les caractéristiques de l'environnement. Le comportement de déplacement est fortement corrélé à l'intensité de la recherche alimentaire (Roussel, communication personnelle, 2021). Ainsi, la quantité de nourriture disponible à proximité d'un ormeau est susceptible d'influencer l'intensité de ses déplacements. De plus, du fait que l'ormeau soit ectotherme, la température de l'eau a une influence sur son activité de déplacement. Le déplacement est de ce fait maximal à la fin de l'été et en automne alors qu'il est minimal en hiver (Clavier et Richard, 1984). Enfin, bien qu'il puisse vivre toute l'année en zone intertidale, une migration verticale de la zone subtidale vers la zone intertidale est observée à partir de la fin de l'automne (Clavier, 1987; Grall, communication personnelle, 2019).

Comme énoncé précédemment, l'ormeau européen est photophobe et de ce fait est une espèce nocturne. Ce rythme lui permet d'échapper à une partie de ses prédateurs diurnes, mais également d'être moins visible lors de ses déplacements (Clavier, 1987). Il évite ainsi des contacts avec une grande partie de ses prédateurs naturels (par exemple crustacés, échinodermes,

céphalopodes, téléostéens, chondrichthyens, mammifères marins) (Mgaya et Mercer, 1994; Shepherd, 1998; Won et al., 2011; De Wall et al., 2012; Aguirre et McNaught, 2013). Lorsqu'il est confronté à un prédateur, l'orveau peut adopter différentes stratégies de fuite, en fonction de la nature du prédateur rencontré (Lachambre et al., 2017a). Par exemple, face à une attaque de crabe, un orveau pourra essayer de s'enfuir, ou de se rétracter, en abaissant sa coquille sur son pied pour ne pas laisser de prise aux pinces du crabe (Robinson et al., 2013; Aguilera et al., 2019). En revanche, face à une étoile de mer, les orveaux adoptent une réponse de fuite stéréotypée (Feder, 1963). Ainsi, ils éjectent du mucus pour tromper olfactivement leur prédateur, tournent brutalement leur coquille une à plusieurs fois puis prennent la fuite vers un abri en décrivant un arc de cercle (Bullock, 1953; Day et al., 1995; Roussel et al., 2019). Ces réponses comportementales différenciées indiquent que les orveaux sont capables d'identifier le type de prédateur auquel ils sont confrontés, probablement grâce à la perception de signaux chimiques, au toucher ou encore à la vue.

4. Effets des pressions naturelles et anthropiques sur les stocks naturels des espèces du genre *Haliotis*

4.1. Impact des agents pathogènes sur les stocks d'orveaux sauvages et d'élevage dans le monde

Les orveaux sont susceptibles d'être infectés par différents pathogènes métazoaires, protozoaires, viraux ou bactériens (Travers, 2008). Différentes espèces de nématodes, de trématodes et de polychètes peuvent notamment infecter de nombreuses parties des orveaux telles que leurs muscles, gonades ou encore leur coquille, ce qui peut, selon le niveau d'infection affaiblir voire tuer les hôtes (Travers, 2008). Divers protozoaires ont déjà été identifiés dans la survenue d'épisodes de mortalités, que ce soit dans le milieu naturel ou en élevage. Par exemple, des parasites du genre *Haplosporidium* ont été identifiés comme potentiels responsables de mortalités proches de 100 % chez *H. tuberculata* en élevage (Azevedo et al., 2008). Des maladies virales, notamment de type herpès virus ont également été détectées chez plusieurs espèces d'orveaux (par exemple *H. diversicolor*, *H. laevigata* et *H. rubra*) et ont causé des mortalités rapides et massives dans des populations naturelles (Travers, 2008). Ces maladies se caractérisent notamment par des lésions au niveau des branchies et des pertes d'adhérence musculaire (Travers, 2008).

Récemment en Bretagne et Normandie, des maladies bactériennes ont provoqué de fortes mortalités dans des populations d'ormeaux sauvages et d'élevage (Nicolas et al., 2002; Travers, 2008). Ainsi, une partie des populations de l'espèce *H. tuberculata* ont été atteintes à partir de 1997 par la bactérie pathogène *Vibrio harveyi*, qui s'est initialement développée dans la région de Concarneau (Nicolas et al., 2002; Travers et al., 2009). A l'échelle de l'aire de répartition de *H. tuberculata tuberculata*, cette infection a provoqué l'effondrement de plusieurs populations entre 1997 et 2004, notamment dans le Morbihan, en Normandie, dans la région de Saint-Malo et sur les Iles Anglo-Normandes. Une mortalité supérieure à 80% a notamment pu être observée pendant les épisodes de virulence de la bactérie (Nicolas et al., 2002; Basuyaux, communication personnelle, 2018). La bactérie *V. harveyi* devient virulente lorsque la température de l'eau de mer dépasse 17 °C, c'est-à-dire pendant les mois d'été (Travers et al., 2009). Puisque la température de l'eau atteint rarement 17°C dans le Finistère Nord, certaines populations naturelles ont ainsi été préservées de l'infection causée par cette bactérie (Huchette et Clavier, 2004). À l'heure actuelle, les populations de la région de Saint-Malo et du Morbihan ont partiellement reconstitué leurs effectifs. En revanche, d'autres populations, notamment en Normandie et sur les îles Anglo-Normandes, peinent à se reconstituer et présentent des effectifs bien inférieurs à ceux précédant l'année 1997, voire des effectifs quasi-nuls au niveau des îles Chausey, où de fortes densités d'ormeaux étaient observées historiquement (Mgaya et Mercer, 1994; Basuyaux, communication personnelle, 2018).

4.2. Effets des activités humaines sur les espèces du genre *Haliotis*

4.2.1. Effets de la dégradation de l'habitat

Comme pour de nombreuses espèces marines, les activités humaines peuvent perturber ponctuellement ou durablement le milieu de vie des ormeaux. À titre d'exemple, Cochard (1982) avait noté la forte dégradation des conditions environnementales (notamment une importante turbidité due à un envasement progressif) d'un site abritant des ormeaux en sortie de rade de Brest (au niveau de la plage de Saint-Anne du Porzic), du fait d'un chantier portuaire, couplé à la proximité de l'embouchure de l'Elorn. Cochard (1982) prédisait alors la disparition totale des ormeaux sur ce site. Cependant, malgré leur potentielle disparition dans les années 1980, les ormeaux sont aujourd'hui de nouveau présents au niveau de la plage de Saint-Anne (observation personnelle).

De plus, l'exploitation des forêts de laminaires en Bretagne par les goémoniers peut être perçue comme une menace pour les populations d'ormeaux situés sur les sites exploités. En effet, ces algues se développent sur les mêmes fonds rocheux que les ormeaux et structurent partiellement ce type d'habitat (Clavier, 1987). De plus, elles peuvent être directement consommées par les ormeaux ou constituer des sources d'éléments nutritifs pour d'autres espèces d'algues lors de leur décomposition (Rapport Valmer, 2016). Ainsi, la pêche d'espèces structurantes de l'habitat peut également avoir un effet indirect sur les populations d'ormeaux. Rogers-Bennett et Pearse (2001) se sont aperçus que dans une zone fermée à la pêche aux oursins en Californie, les juvéniles des espèces *H. rufescens* et *H. walallensis* étaient plus nombreux que dans des zones ouvertes à la pêche. Une des hypothèses proposées pour expliquer ce phénomène était que la pêche des oursins entraînait une diminution de la quantité de microhabitats disponibles pour les juvéniles d'ormeaux, puisque ceux-ci s'abritent sur les oursins, dont les radioles repoussent une partie de leurs prédateurs.

4.2.2. Effort de pêche et état des stocks d'ormeaux dans le monde

L'ormeau est pêché et consommé par l'humain depuis des siècles, notamment en Asie (Olley et Thrower, 1977). Autrefois bon marché, le prix de l'ormeau a augmenté ces dernières décennies, en raison d'une très forte hausse de la demande, notamment venue des pays asiatiques (Hamasaki et Kitada, 2008). Ainsi, pour répondre à la demande mondiale, une pêche commerciale s'est développée pour une vingtaine d'espèces d'ormeaux de grande taille (Figure 10). Cette pêche a remplacé ou s'est ajoutée à une pêche jusque-là récréative et d'autosubsistance (Cook et Gordon, 2010). Les ormeaux sont prélevés à la main, en pêche à pied, en apnée ou en plongée sous-marine. Il est relativement aisé de les capturer car ils évoluent généralement dans des eaux peu profondes, sont peu mobiles et émergent en milieu intertidal pour certaines espèces (Shepherd et al., 1992).

Les pêcheries mondiales d'ormeaux se sont rapidement développées jusqu'à atteindre une production légale d'environ 20 000 tonnes par an dans les années 1970. Le premier pays producteur d'ormeaux sauvages est l'Australie, qui fournissait historiquement 50 % des ormeaux de pêche du monde (Viera, 2014). Depuis 1970, la production légale mondiale n'a fait que diminuer pour chuter à 6500 tonnes en 2015 (Figure 13, voir section aquaculture) (Cook, 2016). Cette diminution globale des captures est due au fait que la majorité des espèces commerciales sont aujourd'hui largement surexploitées et que certaines pêcheries légales comme celles des Etats-

Unis (*H. rufescens*, *H. kamtschatkana* et *H. sorenseni*) et d’Afrique du Sud (*H. midae*) ont dû fermer en raison du déclin excessif de la ressource depuis les années 1970 (Cook et Gordon, 2010). Malgré la mise en place de tailles minimales de capture, de quotas et de zones d’interdiction de pêche, les stocks d’une partie des espèces américaines et de l’espèce sud-africaine *H. midae* ont continué de décroître, en dépit de la fermeture de leur pêcheries légales (Hamasaki et Kitada, 2008; Cook et Gordon, 2010). Néanmoins, malgré la raréfaction généralisée des ormeaux sauvages, la forte demande mondiale en ormeaux issus de la pêche entraîne encore d’importantes pressions sur les stocks restants pour les espèces dont la pêche légale n’a pas été fermée (Huchette et Clavier, 2004).

À la pêche légale viennent s’ajouter d’autres pressions ayant un effet négatif sur les stocks naturels, comme le braconnage (Cook et Gordon, 2010). Le cas de l’Afrique du Sud illustre bien ce dernier point. En effet, la pêcherie légale de l’espèce locale *H. midae* a été fermée temporairement en 2008 après être passée de 2500 tonnes débarquées en 1965 à 104 tonnes au moment de sa fermeture (Raemaekers et al., 2011). La diminution des captures légales de cette espèce a entraîné une explosion de son prix (de 1,5 € / kg en 1990 à 22 € / kg en 2007), ce qui a intensifié l’activité de braconnage, qui restait limitée jusqu’alors. Cette espèce déjà surexploitée a donc été largement braconnée avec un tonnage de pêche illégale estimé à 2800 tonnes en 2015 (Britz, communication personnelle, 2019). Outre une densité de plus en plus faible des populations de *H. midae*, une deuxième conséquence de cette surpêche se traduit par la diminution de la taille moyenne des ormeaux prélevés par les braconniers (160 mm en 2000 contre 110 mm en 2006), ce qui traduit une diminution du nombre et de la qualité des reproducteurs. En effet, chez cette espèce de grande taille, les reproducteurs ne produisent pas beaucoup de gamètes avant d’atteindre 200 mm. La raréfaction de tels individus compromet alors fortement la reconstitution naturelle des stocks, et ce même si le braconnage prenait fin.

D’autres espèces ont quasiment disparu du fait de la surpêche. C’est le cas de l’ormeau blanc américain *H. sorenseni* qui, après avoir été pêché à partir de 1970, a vu ses populations s’effondrer jusqu’à être considéré comme quasi-éteint en 1990 (Davis et al., 1996), et classé comme espèce en danger en 2001 (Stierhoff et al., 2012). Après une étude menée entre 2002 et 2010, il est apparu que les populations naturelles de *H. sorenseni* ne s’étaient pas reconstituées et que la mise en place de programmes de réimplantation était probablement la seule alternative pour sauvegarder l’espèce (Stierhoff et al., 2012).

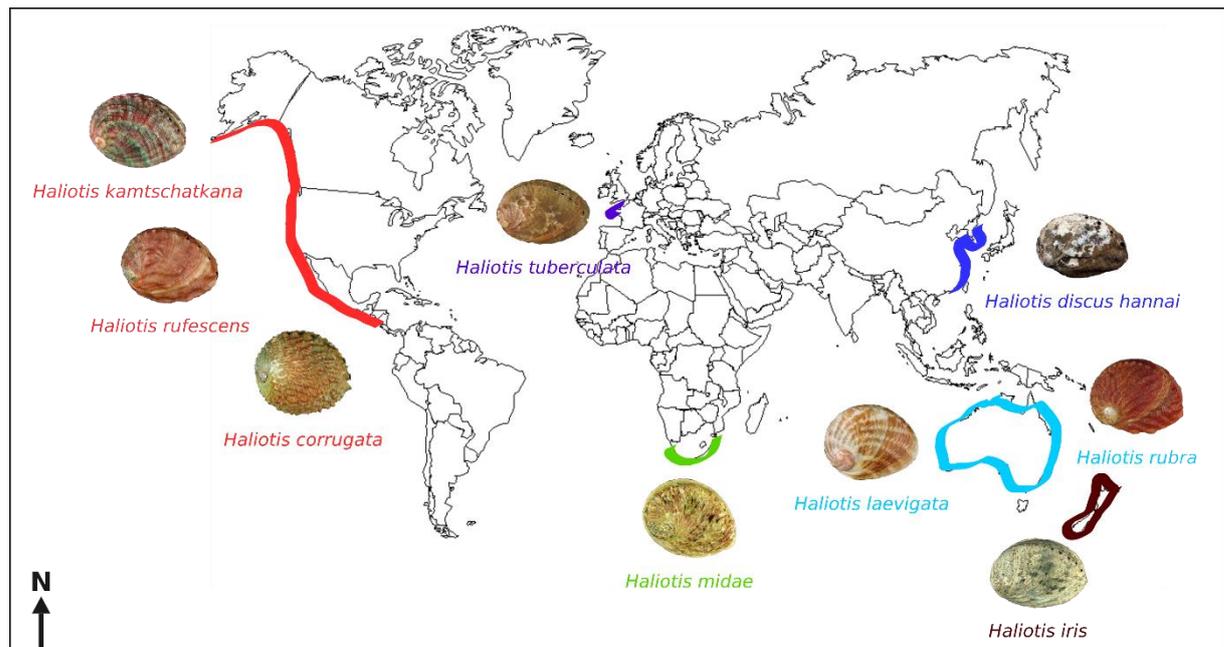


Figure 10 : Présentation des principales espèces d'ormeaux pêchées ou ayant été pêchées commercialement dans le monde.

4.2.3. Effort de pêche et état des stocks chez *Haliotis tuberculata* en Bretagne et Normandie

La sous-espèce *H. tuberculata tuberculata* est consommée depuis plusieurs siècles voire millénaires sur les côtes de Bretagne et de Normandie. En effet, les fouilles archéologiques du site de Beg ar Loued, localisé à Molène et habité entre -2200 à -1800 avant JC ont mis en évidence que l'ormeau était déjà consommé à cette époque (Pailler et Nicolas, 2019). Historiquement, cette espèce était exclusivement prélevée de manière récréative en pêche à pied, avec toutefois du braconnage en apnée et en plongée (Clavier, 1987).

Après une étude sur l'état des stocks naturels menée dans la région de Saint-Malo par Clavier (1987), il est apparu que ces stocks pouvaient supporter une exploitation raisonnée et encadrée par des pêcheurs professionnels en plongée. Des licences de pêche professionnelle en plongée sous-marine ont ainsi été distribuées à partir de 1994 en Bretagne et en Normandie. Chacune d'elles permet à son détenteur de prélever un nombre défini d'ormeaux par année (Huchette et Clavier, 2004). Les quotas alloués à chaque licence sont revus annuellement par l'Ifremer, qui est l'organisme en charge de leur gestion.

Les pêcheurs récréatifs et professionnels sont soumis à une taille minimale de capture (90 mm), et pour la pêche récréative à un quota journalier de 20 individus par pêcheur (Huchette et Clavier, 2004). Cette pêche récréative, restreinte à la zone intertidale, est estimée à une vingtaine

de tonnes par année (Clavier, 1992), et a néanmoins fortement impacté les stocks intertidaux. En effet, *H. tuberculata* s'est raréfié sur le haut de l'estran et seuls quelques juvéniles peuvent y être rencontrés jusqu'à + 2 m environ (Clavier 1987). La pêche professionnelle représente 40 à 60 tonnes annuelles de prélèvement d'ormeaux sauvages sur les côtes bretonnes. En 2012, 42 tonnes d'ormeaux ont été débarquées pour 24 licences délivrées (Laurans, communication personnelle, 2018). Malgré une diminution du braconnage depuis l'instauration des licences de pêche, celui-ci perdure et serait de l'ordre de plusieurs tonnes, voire plusieurs dizaines de tonnes par an (Huchette et Clavier, 2004).

Une partie du stock de *H. tuberculata* semble relativement stable et en bonne santé, notamment dans le Finistère, les Côtes d'Armor et l'Ille et Vilaine. En effet, des pêcheurs professionnels sont établis dans ces trois départements, de même que de nombreux pêcheurs de loisir, et leurs témoignages semblent indiquer que les populations sont stables (Laurans, communication personnelle, 2018). En revanche, le stock d'ormeaux en Normandie ne semble plus en mesure de soutenir une pêcherie professionnelle durable. Depuis la fin des années 90 et le début des années 2000, les pêcheurs de Normandie ont en effet dû stopper leur activité suite aux fortes mortalités induites par la bactérie pathogène *V. harveyi* (Laurans, communication personnelle, 2019). Par ailleurs, après 8 années d'exploitation par des pêcheurs professionnels en plongée, la pêcherie de Guernesey a fermé en 1973 et n'a jamais été rouverte depuis (Huchette et Clavier, 2004). Bien que des plongées sur site montrent que les stocks ne se sont pas encore reconstitués en Normandie et sur les îles Anglo-Normandes, aucune étude n'a, à ce jour, fait un état des lieux général sur les stocks d'ormeaux depuis celui entrepris par Clavier (1987) dans la région de Saint-Malo (Basuyaux, communication personnelle, 2019). Les densités en ormeaux sauvages ont néanmoins été estimées dans deux zones bretonnes : dans le Golfe du Morbihan en 2003 d'une part (Billy et Péronnet, 2003), et dans la Baie de Saint-Brieuc en 2009 d'autre part (Dubreuil, 2009). L'étude menée dans le Golfe du Morbihan a conclu que les biomasses en ormeaux étaient trop faibles pour pouvoir y ouvrir une licence de pêche (Billy et Péronnet, 2003). L'étude de la baie de Saint-Brieuc n'a pu conclure quant aux quantités d'ormeaux présentes à l'échelle de la baie. En effet, l'effort d'échantillonnage n'était pas suffisant pour être en mesure d'extrapoler les observations réalisées à l'ensemble de cette zone géographique (Dubreuil, 2009).

5. Mesures pour enrayer la diminution des stocks d'ormeaux dans le monde

5.1. Arrêt de la pêche, restauration de l'habitat, mise en place de réserves

Une population peut être définie comme un groupe d'individus qui partagent un patrimoine génétique commun et qui sont susceptibles de se reproduire entre eux, tout en étant isolés de leurs autres conspécifiques, notamment au moment de la reproduction (Frankham et al., 2012). Au vu de la difficulté d'estimer l'étendue des populations d'ormeaux, des groupes d'individus isolés peuvent être qualifiés de stocks. Cette appellation sera utilisée dans la suite de cette introduction. Ainsi, les dimensions spatiales d'un stock d'ormeaux sont définies par la superficie de l'habitat continu qui leur est favorable. Les différents stocks d'ormeaux sont donc délimités par des « îlots sporadiques » d'habitat favorable.

Du fait de la capacité de déplacement limitée des ormeaux après métamorphose, les échanges d'individus entre les stocks ne peuvent généralement avoir lieu qu'à travers des flux larvaires. Or, étant donné la courte durée de la phase larvaire (c'est-à-dire de 3 à 6 jours), les flux larvaires sont supposés faibles, avec un recrutement principalement local (Temby et al., 2007; Miller et al., 2016). Ainsi, lorsqu'un stock est épuisé, il est peu probable qu'il se reconstitue rapidement par l'apport massif d'individus issus d'autres stocks (Shepherd et al., 1992). Pour qu'un stock effondré puisse se reconstituer, il faut donc qu'il y ait encore suffisamment de reproducteurs présents. La mise en place de réserves naturelles, couplée ou non à une intervention de restauration de l'habitat peut permettre de restaurer des stocks (Wallace, 1999; DeFreitas, 2005). Ainsi, Wallace (1999) a étudié les effets de la mise en place de zones de réserves sur des populations naturelles de *H. kamtschatkana* et a conclu à leur effet bénéfique sur la concentration d'ormeaux, notamment adultes. En effet, un site militaire interdit d'accès depuis 40 ans abritait significativement plus d'ormeaux, avec plus d'individus âgés, que des sites localisés à l'intérieur d'une réserve naturelle mais régulièrement visités par des braconniers.

5.2. Repeuplement, soutien de stock et *ranching*

5.2.1. Présentation générale des différents concepts

Face au déclin des populations naturelles d'ormeaux, un nombre croissant de pays s'est lancé dans l'expérimentation d'opérations de repeuplement et/ou de soutien de stocks, afin de reconstituer ou de soutenir leurs populations naturelles (Bell et al., 2008; Hamasaki et Kitada,

2008). À ces opérations s'ajoutent des essais de *ranching*. Le repeuplement, le soutien de stock et le *ranching* ont des objectifs finaux différents, synthétisés dans le tableau 1. Ainsi, le *ranching* peut être apparenté à de l'élevage extensif alors que le repeuplement et le soutien de stocks ont vocation à reconstituer les populations naturelles (Grant et al., 2017).

Tableau 1 : Définition du repeuplement, soutien de stock et *ranching* en fonction de leurs objectifs, de la provenance des géniteurs utilisés pour produire des juvéniles, de la densité d'implantation et de la pression de pêche visée (d'après les définitions de Bell et al., 2008; Lorenzen et al., 2012; Grant et al., 2017; Kitada, 2018).

	Objectif	Provenance des géniteurs	Densité d'implantation des juvéniles dans le milieu naturel	Pression de pêche visée
Repeuplement	Restaurer des populations naturelles historiquement présentes jusqu'à les pérenniser	Sauvages	Faible densité	Faible voire nulle
Soutien de stock	Soutenir le recrutement naturel par augmentation de la taille efficace et/ou augmenter la possibilité de pêcher	Sauvages ou issus d'écloserie	Densité moyenne à forte	Modérée à forte suivant l'objectif initial
<i>Ranching</i>	Pouvoir récolter tous les individus implantés une fois la taille commerciale atteinte	Sauvages ou issus d'écloserie	Forte densité	Forte, pêche de tous les individus

5.2.2. Historique de la mise en place des programmes d'implantation

Historiquement, l'objectif des premiers programmes d'implantation de juvéniles issus d'élevage dans le milieu naturel était de réaliser du soutien de stock (Hamasaki et Kitada, 2008). En effet, le Japon, après avoir vu ses captures d'ormeaux sauvages diminuer, fut le premier pays à lancer en 1963 un vaste programme de soutien de ses populations sauvages, dans le but de pérenniser ses activités de pêche. Ainsi, 10,5 millions d'ormeaux juvéniles mesurant 25 - 30 mm ont été implantés au Japon en 1980, 30,3 millions en 2000 et 24,3 millions en 2004 (Hamasaki et Kitada, 2008). Les ormeaux issus de ce programme de soutien de stocks représentaient ensuite de 29,1 à 83,5 % des individus capturés. Malgré ces résultats, la quantité d'ormeaux pêchés a continué de décroître, au point de contraindre le pays de limiter l'implantation aux seuls sites sur lesquelles elle s'avérait rentable (Hamasaki et Kitada, 2008). En dehors du Japon, seul le Mexique a, à ce jour, mis en place un programme de soutien de stocks de grande ampleur, et ce pendant plus de deux décennies, avec l'espèce *H. fulgens* principalement et dans une moindre mesure l'espèce *H. corrugata* (c'est à dire respectivement 80 et 20 % des individus implantés) (Searcy-Bernal et al.,

2013). Ainsi, 2,2 millions de juvéniles ont été implantés entre 2005 et 2011 et les résultats suggèrent que moins de 5 % d'entre eux ont finalement été intégrés aux captures des pêcheries locales.

De nombreux autres pays ont réalisé des essais de repeuplement, de soutien de stock ou de *ranching*. Les résultats synthétiques de certaines de ces études sont présentés dans le tableau 2. Les programmes de repeuplement et de soutien de stocks utilisent presque exclusivement des ormeaux d'élevage à leur stade juvénile, âgés de 1 à 2 ans (Tableau 2). L'analyse du tableau 2 permet également de montrer que la majorité des expérimentations utilisaient plusieurs milliers d'individus, en suivant ensuite leur survie sur plusieurs mois (Schiel, 1993; Roberts et al., 2007; Carson et al., 2019). Les taux de survie des juvéniles étaient globalement assez faibles mais certaines études ont obtenu des taux de survie prometteurs, de plus de 20 % après plusieurs mois, voire plusieurs années (Davis, 1995; Dixon et al., 2006; Melville-Smith et al., 2013). Quelques essais d'implantation de larves d'élevage ont également été menés, principalement en Australie avec les espèces *H. rubra* et *H. laevigata* (Huchette et al., 2005; Leбата-Ramos et al., 2013). Cependant, ceux-ci se sont généralement soldés par des taux de fixation larvaires très faibles, ce qui ne permettait pas le développement d'un nombre suffisant d'individus par la suite (Huchette et al., 2005). De plus, des essais de translocation de géniteurs d'un site à l'autre afin d'augmenter artificiellement la concentration de géniteurs n'ont pas offert de résultats probants (Taniguchi et al., 2013).

5.2.3. Facteurs pouvant limiter la survie dans le milieu naturel après implantation

Facteurs pouvant limiter la survie dans le milieu naturel après implantation

Comme le soulignent toutes les études ayant réalisé des expérimentations d'implantation d'ormeaux issus d'élevage dans le milieu naturel, les taux de mortalité initiaux, qui atteignent régulièrement plus de 50 %, sont très largement supérieurs à ceux d'ormeaux sauvages du même âge (Clavier, 1987; Schiel et Welden, 1987; Hamasaki et Kitada, 2008; Strauss et Friedman, 2009; Hofmeister et al., 2018). Ces mortalités peuvent être expliquées par plusieurs facteurs, qu'ils soient environnementaux ou propres aux ormeaux implantés (DeFreitas, 2005). Ces facteurs ont été classés en deux catégories principales qui seront présentées ci-après et qui sont synthétisées dans la figure 11.

Facteurs propres aux sites sélectionnés pour l'implantation

Le choix du site d'implantation est le principal facteur qui régit la réussite d'un programme de repeuplement, de soutien de stock ou de *ranching* (Blankenship et Leber, 1995; De Waal et al., 2003; Hart et al., 2013a). Il est admis que la présence de prédateurs constitue le principal vecteur de mortalité durant les premiers jours qui suivent l'implantation des ormeaux dans le milieu naturel (Figure 11 ; Griffiths et Gosselin, 2008; Hofmeister et al., 2018; Greenwell et al., 2019a). En effet, les ormeaux issus d'élevage sont très vulnérables face à de nombreux groupes de prédateurs naturels (par exemple crustacés, téléostéens, élasmodermes, échinodermes, céphalopodes et mammifères marins) (Clavier, 1987; Hansen et Gosselin, 2013; Lee et al., 2016; Greenwell et al., 2019a, b).

D'autres caractéristiques des sites d'implantation ont un effet sur la survie des ormeaux à plus ou moins long terme. Ainsi, la quantité et la qualité de la nourriture présente (DeFreitas, 2005), la quantité d'abris, directement liée à la complexité du substrat (Hart et al., 2013a), la force des courants et de la houle (Clavier, 1987) sont autant de facteurs qui influencent la capacité d'accueil du milieu et donc la survie des ormeaux (Figure 11). Il est à noter que la complexité du substrat est particulièrement importante puisqu'elle régit en partie la capacité des ormeaux à se protéger de tout ou partie de leurs prédateurs (par exemple abriement des ormeaux sous des blocs rocheux ou dans des failles) (Clavier, 1987). Ainsi, l'utilisation de cages de protection des ormeaux après leur implantation dans le milieu naturel peut permettre de limiter la mortalité initiale due à la prédation (Hansen et Gosselin, 2013). En effet, ces structures, qui peuvent être naturelles (coquilles d'huîtres ou d'ormeaux) ou artificielles (PVC, tuiles), protègent les ormeaux des prédateurs le temps qu'ils s'acclimatent à l'environnement naturel (Tableau 2 ; Huchette et al., 2005).

Facteurs propres aux ormeaux et aux méthodes d'implantation

Les ormeaux implantés dans le milieu naturel sont issus d'élevage, et peuvent donc avoir été soumis à un processus de domestication (processus décrit dans la section 5.3.4 (Price, 1984; Lorenzen et al., 2012). De plus, ces ormeaux grandissent dans un environnement artificiel, dépourvu de prédateurs et de compétiteurs pour l'accès à la nourriture (Price, 1984; Lorenzen et al., 2012). Ainsi, ils ne sont pas sélectionnés sur leur capacité à échapper aux prédateurs ou à se camoufler, ce qui les rend possiblement plus vulnérables que leurs homologues sauvages (Robinson et al., 2013).

Le processus d'implantation comprend une phase de préparation, de transport et d'implantation dans le milieu naturel. Au cours de ce processus, les ormeaux peuvent potentiellement être sous-nourris (Buss et al., 2015), être stressés lors de la préparation (Goodsell et al., 2006), du transport (Clavier, 1987), ainsi que lors du transfert dans un nouvel environnement (Hansen et Gosselin, 2013). L'ensemble de ces étapes peuvent nuire à la survie ultérieure des ormeaux dans le milieu naturel (Schiel, 1993; Nam et al., 2020). Enfin, la taille et la densité auxquelles les ormeaux sont semés a une influence sur la mortalité (Tableau 2, figure 11). Semer des ormeaux en trop forte concentration peut induire plus de compétition pour l'accès à la nourriture ou encore attirer de nombreux prédateurs et par conséquent induire une prédation massive (Greenwell et al., 2019 a). De plus, de nombreuses études soulignent que les taux de survie augmentent de concert avec la taille des ormeaux implantés (Melville-Smith et al., 2013; Searcy-Bernal et al., 2013).

La manière dont l'ensemble des facteurs décrits ci-dessus sont pris en compte en amont d'une opération de repeuplement, de soutien de stock ou de *ranching*, aura une influence sur la survie finale des ormeaux implantés dans le milieu naturel. Le repeuplement est néanmoins une solution crédible (Carson et al., 2019) et revêt une réelle importance dans la sauvegarde de certaines espèces du genre *Haliotis* (par exemple *H. kamtschatkana*). De plus, il est à noter que malgré les forts taux de mortalité obtenus dans beaucoup d'études, Kitada (2018) souligne que les ormeaux font partie des espèces aquatiques pour lesquelles des opérations de soutien de stock et de *ranching* sont susceptibles d'être économiquement rentables. En effet, en se basant sur le coût de production par individu et sur un taux de recapture moyen de 12 %, il apparaît que les bénéfices sont supérieurs aux coûts. Cependant, Kitada (2018) souligne qu'en fonction des coûts de production et des taux de recapture, le *ranching* pourrait ne pas être économiquement rentable dans tous les pays.

Evaluation de la survie après implantation

Afin d'évaluer la réussite d'une opération de repeuplement ou de soutien de stocks, la survie des ormeaux doit être estimée, que ce soit à court terme, puis à plus long terme (c'est à dire dans les premiers jours, puis pendant plusieurs mois) (Huchette et al., 2005). La survie peut être estimée en comptant les coquilles vides d'ormeaux ou en essayant de retrouver tous les individus vivants. Ces deux méthodes ne donnent respectivement qu'un taux de survie maximum et minimum (Huchette et al., 2005). L'estimation de la survie est rendue complexe par le fait que

les ormeaux puissent être camouflés, qu'ils puissent s'être déplacés, ou que la coquille des individus prédatés puisse avoir été complètement broyée, ou avoir été emportée par les courants, et n'être ainsi plus discernable ou présente (Clavier et Richard, 1984 ; Hansen et Gosselin, 2016). En conséquence, il est nécessaire de réfléchir en amont aux méthodes qui seront employées pour tâcher d'estimer au mieux la survie des juvéniles implantés dans les premiers jours, semaines ou mois (Blankenship et Leber, 1995).

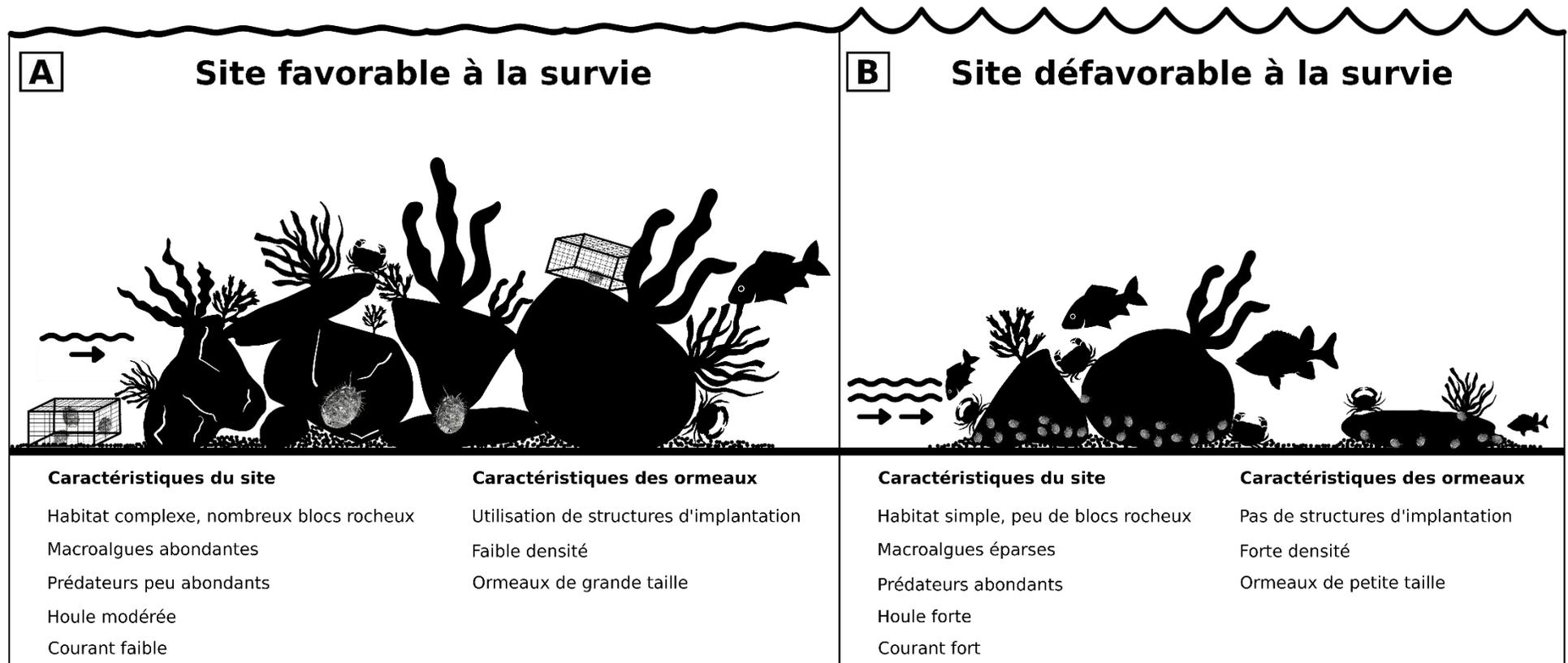


Figure 11 : Représentation schématique de deux habitats et de deux méthodes d'implantation favorables ou non à la survie post-implantation. A) Habitat complexe, avec peu de houle et de courant, riche en nourriture et pauvre en prédateurs dans lequel des ormeaux de grande taille ont été implantés à faible densité, à l'intérieur de structures spécifiques à l'implantation. B) Habitat moins complexe, avec beaucoup de houle et de courant, pauvre en nourriture et riche en prédateurs, dans lequel des ormeaux de petite taille ont été implantés à forte densité, directement dans le milieu.

Tableau 2 : Exemples de travaux d'implantation d'ormeaux issus d'élevage dans le milieu naturel et principaux résultats pour différentes espèces.

Espèce	Pays	Nombre sites d'implantation	Âge des individus	Taille initiale des individus	Nombre individus implantés	Durée du suivi de l'implantation	Taux de survie	Utilisation de structures de protection	Références
<i>Haliotis laevigata</i>	Australie	8 sites	18 mois	28 ± 3 mm	6970	9 mois	0 à 23 % sur 2 sites / 47 à 57 % sur 6 sites	Oui	Dixon et al., 2006
		24 sites	18 mois	31 ± 4 mm	7500	5 ans	De 11 à 67 % après 6 mois / 6 à 20 % après 5 ans	Oui	Hart et al., 2013 a et b
		10 sites de structures artificielles	2 / 3 / 4 ans	40 / 70 / 90 mm	17 965	37 mois	40 - 55 % pour les 2 ans et 80 - 95 % pour les 3 et 4 ans	Oui pour individus de 2 ans	Melville-Smith et al., 2013
<i>Haliotis rubra</i>		6 sites	8 mois	10 - 12 mm	> 10 000	6 mois	3 - 31% après quelques jours / 0.05 - 2% après 6 mois	Oui	Goodsell et al., 2006
<i>Haliotis iris</i>	Nouvelle-Zélande	8 sites	De quelques mois à > 1 an	3 - 30 mm	80 000	De 5 à 23 mois	Taux de survie annuel de 1,2 à 72.4%	Non	Schiel, 1993
		5 sites	Non renseigné	5 - 25 mm	44 100	17 à 20 mois	1,7 à 25.1 % (moyenne de 13.8%)	Non	Roberts et al., 2007
<i>Haliotis asinina</i>	Philippines	1 site	Non renseigné	21 - 30 mm (expé 1) et 15 - 25 mm (expé 2)	1010 (expé 1) et 2625 (expé 2)	17 mois	6,47% en moyenne (expé 1 et 2)	Oui	Lebata-Ramos et al., 2013
		Non renseigné	Non renseigné	3 classes de taille (25 - 30 / 35 - 40 / 45 - 50 mm)	± 6000	6 mois	12,3% après 2 mois et 6,9 après 6 mois	Oui	Okuzawa et al., 2008
<i>Haliotis midae</i>	Afrique du Sud	2 sites	Non renseigné	12 - 25 mm	Non renseigné	De 33 à 56 jours	24%	Oui	De Waal et al., 2003
<i>Haliotis fulgens et corrugata</i>	Mexique	multiples	± 1 an	> 15 mm	2 200 000	Variable	Moins de 5% incorporés à la pêche commerciale	Oui	Searcy-Bernal et al., 2013
<i>Haliotis rufescens</i>	USA	3 sites	Non renseigné	2 classes de taille (32.4 ± 2.6 et 55.9 ± 2.0 mm)	3200	8 mois	10,5 % et 32,3 % de coquilles vides retrouvées après 8 mois pour classes de taille 1 et 2. respectivement	Oui	Hofmeister et al., 2018
		36 structures artificielles	Non renseigné	15 - 90 mm (moyenne de 41 mm)	7200	2 ans	32 % après 1 ans et 24 % après 2 ans	Non	Davis et al., 1995
<i>Haliotis kamtschatkana</i>	USA	10 sites	18 - 22 mois	26 ± 0.5 mm	11 000	1 an	0 à 23% (moyenne de 10,2 %)	Oui	Carson et al., 2019
	Canada	1 site	Non renseigné	42.3 - 64.8 mm	1680	2 semaines	83% après 24 h et 34% après 15 jours	Oui	Hansen et Gosselin, 2013
<i>Haliotis tuberculata</i>	France	1 site	1 an	17.6 mm	98	1 an	18%	Non	Clavier, 1987

5.3. Aquaculture

5.3.1. Aquaculture au niveau mondial

L'aquaculture s'est développée ces dernières décennies afin de compléter l'offre d'organismes aquatiques issus de la pêche, ou pour pallier la raréfaction de certaines espèces. L'industrie aquacole est relativement récente et a pris de l'ampleur à partir des années 1980. Par exemple, seules 18,8 % des espèces de poissons élevées dans le monde le sont depuis plus de 50 ans (Teletchea et Fontaine, 2014). Au total, environ 310 espèces animales aquatiques sont élevées dans le monde (c'est à dire poissons, mollusques, crustacés et échinodermes principalement) (Teletchea et Fontaine, 2014; Lachambre, 2017). La part d'organismes aquatiques issus de l'aquaculture dans l'alimentation humaine a augmenté de manière significative à partir des années 1990 et ce jusqu'à représenter un volume de 90 millions de tonnes en 2018, soit un tonnage similaire à celui fourni par l'industrie de la pêche (Figure 12) (Rapport FAO, 2020).

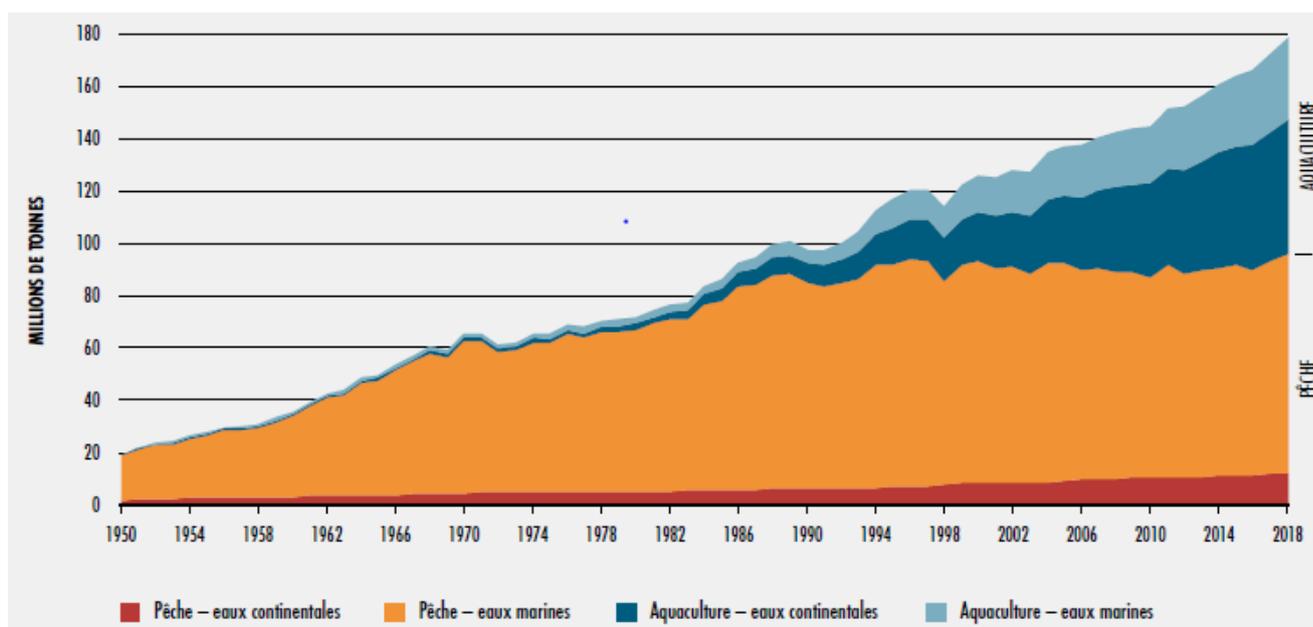


Figure 12 : Evolution de la production halieutique et aquacole mondiale, toutes espèces animales marines confondues, de 1950 à 2018. Graphique issu du rapport de la FAO (2020).

5.3.2. Historique de l'aquaculture des ormeaux dans le monde

Pour pallier la raréfaction des ormeaux sauvages et continuer à approvisionner le marché, la majorité des ormeaux consommés dans le monde provient de l'aquaculture (Cook, 2016). En effet, la majorité des espèces commerciales sont aujourd'hui élevées dans des fermes aquacoles (Cook, 2014; Viera, 2014). Cette production aquacole vient donc compléter l'offre d'ormeaux de pêche et peut même s'y substituer lorsque la pêche a été fermée.

L'aquaculture de l'ormeau a débuté dans les années 1970 au Japon avec environ 50 tonnes produites en 1970 (Figure 13) (Cook, 2014). Cette production s'est par la suite très largement développée et étendue à d'autres pays jusqu'à atteindre 8700 tonnes en 2002 puis 129 287 tonnes en 2015 (Cook, 2016). La production aquacole a dépassé la production par pêche entre 2002 et 2008 (Figure 13).

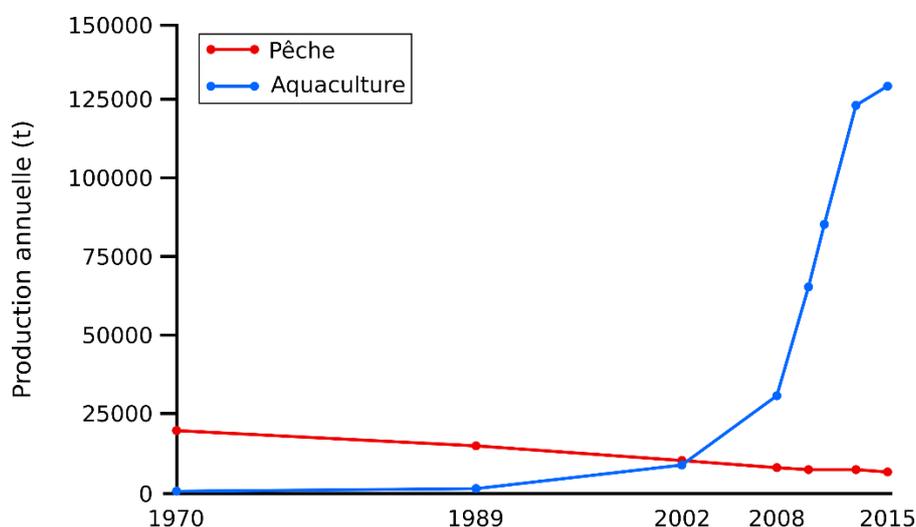


Figure 13 : Evolution de la production annuelle mondiale en ormeaux de pêche et d'élevage entre les années 1970 et 2015, toutes espèces confondues. Adapté du tableau de Cook (2016).

La majeure partie de cette production (90 %) est localisée en Chine (Cook, 2016). En effet, ce pays comptait 300 fermes aquacoles en 2013, presque exclusivement dédiées à la production de l'espèce *H. discus hannai* (95%), en pleine mer (Cook, 2014; Viera, 2014). Les autres pays producteurs d'ormeaux d'élevage sont par ordre d'importance la Corée du Sud, l'Afrique du Sud, l'Australie, le Chili, les Etats-Unis, Taiwan, la Nouvelle-Zélande, le Mexique, la Thaïlande, les Philippines et la France (Cook, 2016).

Pour la plupart des espèces d'ormeaux élevées dans le monde, le prix de vente est inférieur au prix des individus sauvages. En effet, les ormeaux d'élevage sont généralement nourris avec des granulés de nourriture artificielle, ce qui fait que leur chair est perçue comme étant de qualité moindre par rapport à celle des individus sauvages (Cook, 2014). En dépit de ces écarts de prix et du faible tonnage produit en comparaison à d'autres espèces marines, la forte valeur ajoutée des ormeaux fait de l'halioticulture une industrie économiquement conséquente à l'échelle mondiale puisqu'elle représente annuellement plus d'un milliard d'euros (Cook, 2016).

5.3.3. Aquaculture des ormeaux en France

L'élevage de l'espèce *H. tuberculata* a été initialement entrepris en France dans les années 1980 par l'équipe de la station biologie d'Argenton, située dans le Finistère (Flassch et Aveline, 1984). Ce groupe de chercheurs a réussi à maîtriser l'ensemble du cycle de reproduction de l'ormeau européen, de la maturation des géniteurs au grossissement des larves puis des juvéniles. Le SMEL (Synergie Mer et Littoral) a également développé l'élevage de cette espèce, notamment *via* le travail de thèse de Basuyaux (1997).

En France, la seule ferme d'halioticulture encore en activité et maîtrisant l'ensemble du cycle de reproduction est implantée dans le Finistère. Il s'agit de l'entreprise France Haliotis, basée à Plouguerneau depuis 2004. Cette ferme élève exclusivement la sous-espèce *H. tuberculata tuberculata* dont elle maîtrise la production de tous les stades de développement, de l'état larvaire à l'âge adulte. Cette entreprise produit environ 6 - 7 tonnes d'ormeaux par année, ce qui représente un total d'environ 200 000 individus (Huchette, communication personnelle, 2018). Il est intéressant de noter que les ormeaux d'élevage français sont plus chers à l'achat que les ormeaux sauvages (75 € et 30-40 € le kg, respectivement), à l'inverse de la majorité des ormeaux du marché mondial (Hamasaki et Kitada, 2008). Ceci est dû à deux facteurs principaux. D'une part, après une année en nurserie à terre, les ormeaux de France Haliotis sont transférés dans des cages de pleine mer et nourris exclusivement avec des macroalgues sauvages, récoltées à la main. D'autre part, leur vente n'est pas soumise à une limite de taille, ce qui fait que les ormeaux d'élevage sont vendus à 4 ans, pour une taille moyenne de 75 mm. Les ormeaux sont calibrés puis envoyés vivants auprès de la restauration haut de gamme (Huchette, communication personnelle, 2018). Cette dernière est prête à payer ces ormeaux d'élevage plus cher que leurs homologues sauvages car ils possèdent notamment une proportion de chair plus stable.

5.3.4. Effets de l'aquaculture sur les organismes élevés

Principe de domestication

La domestication est un processus qui se met en place au fur et à mesure de l'élevage d'une espèce par l'humain (Price, 1984; Grant et al., 2017). Elle peut être considérée comme la phase la plus avancée des relations entre les animaux et l'humain (Vigne, 2011). Elle est induite par deux processus principaux qui sont d'une part les objectifs morphologiques et comportementaux visés par l'éleveur (sélection artificielle intentionnelle ; par exemple

croissance rapide, placidité) et d'autre part l'interaction entre les organismes et le milieu captif dans lequel ils sont élevés (sélection artificielle non intentionnelle ; Lachambre, 2017). Ainsi, la domestication est définie par Price (1984) comme étant le processus par lequel une espèce élevée devient adaptée aux interactions avec l'humain et aux conditions de captivité *via* une combinaison de changements génétiques se transmettant au fil des générations et *via* des adaptations induites par l'environnement captif, se reproduisant à chaque génération.

L'élevage supprime la sélection naturelle et induit une sélection artificielle, volontaire (par exemple sélection sur des critères physiologiques, comportementaux), ou involontaire (c'est à dire induite par les conditions d'élevage) (Lachambre, 2017). De plus, l'utilisation d'un nombre limité de reproducteurs (taille efficace faible) peut réduire la variabilité génétique de la population d'élevage, en induisant un phénomène de dérive génétique et ainsi induire une perte de potentiel évolutif (Grant et al., 2017; Harney et al., 2018). Au cours des générations successives, les organismes élevés peuvent subir des changements dans leur patrimoine génétique (c'est à dire divergence des fréquences alléliques et perte de diversité génétique), qui finit par différer de celui de leurs homologues sauvages (Le Vay et al., 2007; El Balaa et Blouin-Demers, 2011; Grant et al., 2017).

La résultante la plus visible de ce processus est comportementale (Lorenzen et al., 2012), en particulier chez les animaux d'élevage terrestres (Price, 1984). Certaines réponses comportementales des organismes domestiqués sont différentes de celles de leurs conspécifiques sauvages (Roussel et al., 2019). Cela se traduit par exemple par des comportements anti-prédateurs moins efficaces, ou par des modifications du rythme d'activité (Price, 1984; Jensen, 2006; Jackson et Brown, 2011). Sur le plus long terme (plusieurs générations), la domestication engendre également des modifications morphologiques, du fait de la sélection intentionnelle opérée par l'éleveur ou de la sélection non-intentionnelle causée par les conditions environnementales de l'élevage (Price, 1999; Lee et Berejikian, 2008).

La domestication des espèces aquatiques

La domestication des espèces terrestres par l'humain est ancienne, avec des traces de domestication des loups datant d'environ 15 000 avant J-C (Vigne, 2011). Celle-ci s'est par la suite développée et étendue à de nombreuses espèces végétales et animales, presque exclusivement terrestres, jusqu'à devenir une base fondamentale de l'alimentation des

sociétés humaines (Lachambre, 2017). Avec la spécialisation de l'élevage, de nombreuses races ont été créées à partir d'un nombre d'espèces restreint au départ, en sélectionnant par exemple des individus pour leur capacité à produire de la viande, d'autres pour leur docilité, ou encore leur capacité à résister à certains pathogènes (Gauthier, 1990).

La domestication de la très grande majorité des espèces aquatiques a débuté bien plus récemment que celle des espèces terrestres (Lorenzen et al., 2012; Grant et al., 2017). L'explication tient au fait que la plupart des espèces aquatiques qui sont élevées à l'heure actuelle étaient auparavant fournies exclusivement par la pêche (Lorenzen et al., 2012; Grant et al., 2017). Cependant, il existe des espèces aquatiques domestiquées depuis des centaines, voire des milliers d'années mais celles-ci sont peu nombreuses. La carpe est l'exemple le plus ancien puisque cette espèce a été initialement élevée en Chine il y a 2000 ans (Gauthier, 1990).

Comme détaillé dans la partie 5.3.1, l'aquaculture s'est développée ces dernières décennies afin de compléter l'offre d'organismes aquatiques issus de la pêche, ou pour pallier la raréfaction de certaines espèces. Ces organismes issus de l'aquaculture sont généralement peu différenciés morphologiquement de leurs homologues sauvages (Lorenzen et al., 2012). Cela est expliqué par le fait que le processus de domestication met du temps à engendrer des modifications profondes et visibles des organismes, et ce même si les organismes aquatiques peuvent rapidement présenter des différences physiologiques et comportementales par rapport à leurs conspécifiques sauvages (Lachambre, 2017). Le degré de domestication d'une espèce a été catégorisé au travers de 5 niveaux croissants, décrits par Teletchea et Fontaine (2014) et synthétisés dans le tableau 3.

Les individus des espèces situées aux niveaux de domestication 1, 2 et 3 sont sélectionnés par l'environnement d'élevage mais cette sélection ne se transmet pas à la génération suivante puisque les géniteurs sont systématiquement issus du milieu naturel. De plus, ces trois premiers niveaux dépendent encore des populations naturelles, qui doivent être en mesure de fournir des géniteurs de qualité en quantité suffisante (Grant et al., 2017).

Tableau 3 : Présentation des 5 niveaux de domestication allant des premiers essais d'acclimatation en élevage à la maîtrise de l'ensemble du cycle de vie d'un organisme et de sa sélection intentionnelle par l'humain. Adapté de Teletchea et Fontaine (2014).

Niveau de domestication	Description	Nombre d'espèces	Exemples
0	Captures issues de la pêche	4671	
1	Premiers essais d'acclimatation à un environnement d'élevage	39	Brème blanche (<i>Blicca bjoerkna</i>)
2	Une partie du cycle de vie est réalisée en captivité, mais d'importantes limites existent encore (par exemple reproduction, élevage des larves ...)	75	Sériole Japonaise (<i>Seriola quinqueradiata</i>), thon rouge (<i>Thunnus thynnus</i>), anguille européenne (<i>Anguilla anguilla</i>)
3	Le cycle de vie complet se déroule en captivité, mais avec un apport de géniteurs sauvages	61	Sole Sénégalaise (<i>Solea senegalensis</i>), gardon (<i>Rutilus rutilus</i>)
4	Le cycle de vie complet se déroule en captivité, sans apport de géniteurs sauvages mais aucune sélection n'est réalisée	45	Mrigal (<i>Cirrhinus mrigala</i>), sandre (<i>Sander lucioperca</i>), perche européenne (<i>Perca fluviatilis</i>)
5	Un programme de sélection est mené sur des caractéristiques spécifiques (croissance, qualité de chair ...)	30	Carpe commune (<i>Cyprinus carpio</i>), saumon atlantique (<i>Salmo salar</i>), bar (<i>Dicentrarchus labrax</i>), <i>Haliotis sp</i>

Concernant les niveaux de domestication 4 et 5, l'environnement captif influence le développement des individus à chaque génération et la sélection intentionnelle ou non-intentionnelle est transmise d'une génération à l'autre du fait qu'il n'y ait plus d'apport de géniteurs sauvages (Tableau 3). Comme évoqué précédemment, il apparaît qu'en 2014, seulement 75 espèces aquatiques étaient aux stades 4 et 5, les plus avancés de la domestication (par exemple le saumon atlantique ou le bar ; Tableau 3). En revanche, malgré le fait que l'élevage des organismes aquatiques soit récent, la domestication peut rapidement y devenir effective du fait de leur importante production d'œufs, qui offre un fort potentiel pour une sélection rapide (Lorenzen et al., 2012). Néanmoins, le nombre d'espèces domestiquées ou en cours de domestication reste très faible en comparaison aux quelques 5000 espèces pêchées dans le monde (Tableau 3).

Aquaculture des espèces du genre Haliotis

Les premiers ormeaux ont été élevés en écloserie à partir des années 1970. Pour plusieurs espèces du genre *Haliotis*, l'ensemble du cycle de production a lieu en élevage, avec

ou sans apport de géniteurs sauvages. De plus, certaines espèces font l'objet d'un plan de sélection intentionnelle basé sur leur vitesse de croissance ou leur résistance aux manipulations par exemple (Lachambre, 2017). Ainsi, plusieurs espèces d'ormeaux en sont au stade 4 ou 5 de la domestication. C'est notamment le cas de l'ormeau européen *H. tuberculata tuberculata* (Lachambre, 2017), chez lequel un plan de sélection sans apport de géniteurs sauvages a été mis en place depuis trois générations (une dizaine d'années) (Huchette, 2019, communication personnelle). La domestication peut rapidement engendrer des modifications comportementales et physiologiques (c'est à dire après une seule génération en élevage) (Robinson et al., 2013; Lachambre et al., 2017b; Roussel et al., 2019). Ainsi, la réussite de programmes de repeuplement ou de soutien de stocks pourrait potentiellement être impactée si les individus implantés dépassent un certain seuil du processus de domestication, qui pourrait engendrer des réponses comportementales différentes de celles d'individus sauvages. De plus, des individus issus d'élevage ont tendance à avoir une valeur sélective moins importante que leurs homologues sauvages, comme cela a par exemple été observé pour plusieurs espèces de saumons (Christie et al., 2014). Il est donc nécessaire de considérer cet effet avant de débiter des opérations d'implantation de juvéniles d'ormeaux d'élevage dans le milieu naturel.

6. Problématique et objectifs de la thèse

6.1. Démarche responsable du soutien de stock / repeuplement

Préalablement à la mise en place d'essais d'implantation de juvéniles issus d'élevage dans le milieu naturel, il est nécessaire d'avoir appréhendé le maximum de facteurs susceptibles d'influencer non seulement la survie des juvéniles, mais aussi la préservation des populations sauvages existantes (Le Vay et al., 2007; Grant et al., 2017). Ainsi, la nature des sites, les caractéristiques des ormeaux implantés, les méthodes de préparation et d'implantation de ces ormeaux et leurs effets potentiels en termes de transmission de maladies et d'altération de la diversité génétique doivent être pris en considération (Blankenship et Leber, 1995). Cette démarche d'anticipation a été développée pour l'espèce *H. tuberculata* dans le cadre de ce travail de thèse et détaillée ci-après.

6.2. Problématique de la thèse

L'ormeau européen a disparu de certains sites où il était historiquement présent (Travers et al., 2009). Cette disparition a entraîné la fermeture de plusieurs licences de pêche

professionnelle par manque de ressources, notamment en Normandie (Huchette et Clavier, 2004). À l'heure actuelle, 20 ans après l'effondrement initial des stocks de *H. tuberculata* en Bretagne et en Normandie, certains stocks ne se sont pas encore reconstitués (Basuyaux, communication personnelle, 2018). Étant donnée la forte valeur patrimoniale de l'ormeau en Bretagne / Normandie et la volonté de la filière pêche de pérenniser voire d'étendre cette activité de pêche, la mise en place de programmes de repeuplement ou de soutien de stock est envisagée. Ce travail de thèse a pour but de comprendre et d'étudier quels sont les principaux facteurs susceptibles d'influencer la réussite d'opérations de repeuplement ou de soutien de stock et/ou d'avoir des effets néfastes sur les populations naturelles déjà en place. Pour cela, des études de laboratoire et des suivis dans l'environnement naturel ont été réalisés et seront détaillés dans la suite de ce manuscrit. Ces études ont été réalisées à la lumière d'autres tentatives de repeuplement – soutien de stocks réalisées pour d'autres espèces d'ormeaux ailleurs dans le monde.

6.3. Objectifs de la thèse

Comme cela a été évoqué précédemment, la mise en place de programmes de repeuplement ou de soutien de stock nécessite d'avoir pris de nombreuses précautions en amont (Le Vay et al., 2007). En effet, il est nécessaire d'étudier les effets de divers facteurs, qu'ils soient propres aux ormeaux (par exemple niveau de domestication, degré de stress) ou externes (par exemple sélection de sites, méthodes d'implantation). Ainsi, l'objectif premier de ce travail de thèse était d'appréhender des verrous techniques à l'implantation d'une part et d'approfondir les connaissances existantes sur la niche écologique de l'ormeau européen d'autre part. De plus, une analyse des effets potentiels des ormeaux implantés sur l'intégrité du patrimoine génétique des populations naturelles a été entreprise par le biais de comparaisons génétiques. Ce manuscrit de thèse s'articule autour de **quatre chapitres** dont chacun analysera un ou des facteurs susceptibles d'éclairer par la suite les choix des porteurs de programmes d'implantation. Le **Chapitre 1** est consacré à l'étude des effets de la domestication, le **Chapitre 2** analyse les effets de la sous-nutrition et du stress, le **Chapitre 3** étudie la caractérisation de l'habitat de l'ormeau et enfin le **Chapitre 4** s'intéresse à la diversité génétique des populations naturelles d'ormeaux en Bretagne / Normandie.

6.3.1. Niveau de domestication

La qualité intrinsèque des ormeaux implantés, qui peut être définie par leur capacité à atteindre un âge et une taille suffisante pour intégrer le stock de reproducteurs, est un facteur limitant de la réussite d'un programme de repeuplement ou de soutien de stock (Le Vay et al., 2007). La domestication peut entraîner des modifications comportementales et morphologiques (Lorenzen et al., 2012; Roussel et al., 2019). Ainsi, il est généralement recommandé de restreindre au maximum l'utilisation de géniteurs issus de plusieurs générations d'élevage, et de limiter le temps passé en écloserie par les juvéniles avant leur implantation, afin de diminuer les modifications comportementales induites par l'environnement d'élevage (Le Vay et al., 2007; Grant et al., 2017). Dans ce contexte, le **Chapitre 1** s'est intéressé aux effets du processus de domestication sur le comportement et la survie de juvéniles d'ormeaux issus de l'entreprise France Haliotis. Les réponses comportementales et la survie de juvéniles issus de parents sauvages et de parents d'élevage (3^{ème} génération d'individus sélectionnés sur leurs performances de croissance) ont été comparées en laboratoire. Les interactions ormeaux-prédateurs étaient au centre de ces manipulations étant donné l'importance qu'elles revêtent lors de l'implantation d'ormeaux d'élevage dans le milieu naturel.

6.3.2. Niveau de nutrition et de stress

Au cours des phases de préparation et de transport qui précèdent l'implantation dans le milieu naturel, les ormeaux sont généralement sous-nourris et stressés par des épisodes d'exondation (Wells et Baldwin, 1995) et des manipulations (par exemple décollement, tri en fonction de la taille, mise en place de marqueurs pour le suivi ultérieur de la mortalité ; Clavier, 1987). Ces épisodes stressants peuvent affecter la mortalité des ormeaux après leur implantation dans le milieu naturel (Clavier, 1987; McCormick et al., 1994). De ce fait, étudier leurs effets potentiels sur les comportements et la survie des ormeaux en laboratoire est très informatif pour l'élaboration de protocoles d'implantation (Le Vay et al., 2007). Le **Chapitre 2** s'est intéressé à ces questions par des tests comportementaux, à différentes échelles temporelles (de quelques minutes à plusieurs semaines) et spatiales (aquariums de 14 l à des mésocosmes de 265 l), pendant lesquelles les effets de la sous-nutrition, des manipulations et du transport pré-implantation sur le comportement et la survie de juvéniles d'ormeaux issus de parents sauvages ont été évalués.

6.3.3. Caractérisation de l'habitat de l'ormeau et sélection de sites propices à l'implantation

La sélection de sites dont les conditions environnementales sont propices au développement des ormeaux est certainement l'aspect le plus important et le plus complexe d'une opération de repeuplement ou de soutien de stock (Huchette et al., 2005). Afin de sélectionner des sites pour lesquels des opérations de repeuplement ou de soutien de stock sont justifiées, il faut généralement entreprendre une analyse historique de l'évolution des populations naturelles (Shackell et al., 2005).

De plus, pour être en mesure de sélectionner des sites aux conditions environnementales favorables, la niche écologique de l'ormeau, constituée de caractéristiques biotiques et abiotiques qui lui sont propres, doit être décrite en amont. Ainsi, il est reconnu que ces sites doivent permettre aux ormeaux de se camoufler, et donc contenir des blocs rocheux et / ou des failles (Grant et al., 2017). Les courants et la houle doivent également être quantifiés (Blankenship et Leber, 1995). De surcroît, lorsque les densités de populations naturelles d'ormeaux le permettent, une étude des populations en place est recommandée (c'est à dire densité et taille des individus). En outre, la capacité de charge de l'écosystème doit être suffisante pour permettre la survie et la croissance de tous les individus implantés, aux différents stades de leur développement (Grant et al., 2017). La présence de compétiteurs potentiels pour l'accès à la ressource et/ou à l'espace doit également être notée (Blankenship et Leber, 1995). Enfin, la diversité et la densité des espèces de prédateurs potentiels est une variable essentielle à prendre en compte lors de la sélection des sites, notamment pour envisager l'utilisation de structures de protection des ormeaux (Huchette et al., 2005).

Concernant l'espèce *H. tuberculata*, aucune analyse récente n'a été conduite sur l'état des stocks naturels. De plus, aucune étude ne s'est consacrée à la caractérisation précise de l'habitat de cette espèce à petite échelle, bien que plusieurs études descriptives de cet habitat existent (Forster, 1962; Clavier, 1987; Richard, 1988). Ces informations indispensables à la sélection de sites appropriés à des opérations de repeuplement ou de soutien de stock sont donc manquantes pour cette espèce. Ainsi, le **Chapitre 3** avait comme objectif de décrire l'étendue actuelle de l'aire de répartition de *H. tuberculata*, de mettre en évidence des discontinuités dans cet habitat et de caractériser son habitat en plongée sous-marine.

6.3.4. Evaluation préalable de la diversité génétique des populations sauvages et d'élevage

Avant d'implanter des ormeaux issus d'élevage dans le milieu naturel, il est nécessaire de s'assurer que l'information génétique qu'ils véhiculent est suffisamment proche de celle des populations sauvages (Le Vay et al., 2007). Pour ce faire, une analyse de la diversité génétique des populations sauvages de l'espèce *H. tuberculata* doit être entreprise en amont de tout programme de repeuplement ou de soutien de stock (Blankenship et Leber, 1995; Lorenzen et al., 2012; Grant et al., 2017). Cela doit permettre d'évaluer s'il existe des différences spatiales de la variabilité génétique entre les différents stocks sauvages, et d'identifier des populations génétiquement différenciées et possiblement adaptées à leur environnement local (Le Vay et al., 2007). Ceci aura notamment une importance au moment de la sélection des géniteurs utilisés pour produire les juvéniles destinés à être implantés sur un site donné. En effet, il est recommandé d'utiliser des géniteurs qui soient génétiquement proches des ormeaux sauvages issus du ou des sites sur lesquels leurs descendants seront implantés (Huchette et al., 2005; Grant et al., 2017). De plus, afin de maximiser la diversité génétique et de réduire la perte d'allèles rares chez les descendants, Grant et al. (2017) recommande des pontes faisant intervenir *a minima* 25 mâles et 25 femelles.

Chez l'espèce *H. tuberculata*, seules deux études ont comparé la diversité génétique de populations sauvages de Bretagne et de Normandie, dans l'unique but de les comparer avec les autres sous-espèces présentes aux Canaries et en Méditerranée (Van Wormhoudt et al., 2009 ; Roussel et Van Wormhoudt, 2017). Au cours du **Chapitre 4** la diversité génétique de 10 populations sauvages de Bretagne et de Normandie a été étudiée avec cette fois-ci l'objectif de comparer la structure génétique intra et interpopulationnelle de la sous espèce *H.t. tuberculata*. De plus, la diversité génétique d'individus issus d'élevage et issus de plusieurs générations de sélection et de plusieurs cohortes a été évaluée.



Ewan AMICE © cnrs

CHAPITRE 1



La domestication ne modifie pas significativement le comportement anti-prédateur de l'orveau européen (*Haliotis tuberculata*) : implications pour les programmes de soutien de stocks

No evident effect of domestication on the anti-predator behaviour of European abalone (*Haliotis tuberculata*): implications for stock enhancement programs

Chauvaud Pierre¹, Day Rob², Roussel Sabine¹

Affiliation

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

²School of Biosciences, University of Melbourne, Parkville, Victoria 3010, Australia

Chapitre publié dans *Applied Animal Behaviour Science* en 2021

Contexte et résumé de l'étude

L'objectif de ce premier chapitre était d'étudier les effets du processus de domestication sur le comportement et la survie de l'orveau européen *Haliotis tuberculata* en laboratoire. Nous nous sommes intéressés en particulier aux comportements que devront adopter les orveaux une fois implantés dans le milieu naturel (c'est à dire des comportements anti-prédateurs, d'abritement, et rythme d'activité adapté). Pour répondre à cette problématique, des juvéniles de 16 mois issus de deux niveaux de domestication (géniteurs sauvages et de géniteurs d'élevage sélectionnés depuis trois générations pour leur vitesse de croissance) ont été étudiés. Trois types de tests ont été réalisés en laboratoire, à différentes échelles spatiales et temporelles : 1) Tests de réponses comportementales à court-terme face à un prédateur (étoile de mer et simulation d'attaque de crabe), 2) Suivi du rythme d'activité en présence ou en absence d'étrilles (*Necora puber*) dans des aquariums de 14 L pendant 15 jours, et 3) Analyse des taux de mortalité après 20 jours dans des mésocosmes de 5 m³ contenant ou non des étrilles. Au total, 480 individus ont été utilisés dans ces tests.

Les résultats obtenus n'ont pas mis en évidence d'effets significatifs du processus de domestication sur les variables comportementales analysées. En revanche, une mortalité significativement plus importante a été obtenue en présence de prédateurs lorsque le rythme d'activité a été suivi en aquarium, et lors des suivis dans un environnement plus complexe en mésocosmes. Ces résultats suggèrent qu'à l'heure actuelle, le processus de domestication initié chez l'ormeau européen n'a pas d'effets sur ses réponses comportementales et que les ormeaux issus de reproducteurs sélectionnés et sauvages seront probablement aptes à se comporter de manière adaptée dans l'environnement naturel. Toutefois, des taux de mortalité importants liés à la présence de prédateurs soulignent leur rôle majeur dans la survie post-implantation des ormeaux.

Abstract

Stock enhancement programs for the European abalone (*Haliotis tuberculata*) might be an efficient way to restore collapsed natural populations or preserve fishing activities. Specifically, this practice consists of releasing hatchery-reared juveniles from wild or farmed broodstock into natural environments. However, the process of selection and adaptation to farming conditions may result in domestication, thus leading to genetic and behavioural changes in farmed animals. Therefore, evaluating the effects of the domestication process on juveniles is a critical first step toward the development of successful abalone stock enhancement programs. To this end, the behaviour and survival of sixteen-month-old *H. tuberculata* juveniles from wild and from farmed broodstock (the product of three generations of shell-length based selection) were compared. We used three assays at different spatial and temporal scales: (1) short-term responses to simulated contact with predators, (2) the activity pattern in the presence of a natural predator (the velvet crab *Necora puber*) in aquariums during a 2-week trial, and (3) survival in large mesocosms in the presence of predators during a 3-week trial. No significant effects of the broodstock origin of the juveniles were detected on any of the studied parameters ($P > 0.05$). In addition, the estimated size effects were small compared to the overall mean for most of the variables, suggesting that the domestication process was too recent to induce important behavioural changes in juveniles from farmed broodstock.

Introducing crabs into the mesocosms significantly decreased abalone survival rates ($P < 0.05$). In the activity pattern trial, most of the abalone mortality in aquariums with crabs (55

%) occurred within the first three days, which was largely attributed to initial exploration of areas outside of shelters by the abalone. In the second week, abalone spent much less time moving when crabs were present ($P < 0.05$).

These results suggest that juveniles from both origins would likely have the same survival rates if released in the wild. The commonly reported high abalone mortality immediately after seeding is likely due to a lack of hiding behaviour or exploration of the new environment during the first few days of exposure to predators in the wild. Therefore, current release systems may need to be adjusted to the ethological characteristics of abalone juveniles to avoid high mortalities due to an initial lack of predator avoidance.

Keywords: *Haliotis tuberculata*, behaviour, predation, domestication, breeding, stock enhancement

1. Introduction

The genus *Haliotis* comprises approximately 63 species and sub-species, 20 of which are consumed by humans and have seen their populations sharply decline over the last three decades mainly due to overfishing (Geiger and Owen, 2012; Zeeman et al., 2012; Hansen and Gosselin, 2016; WorMS, 2021), and diseases (Nicolas et al., 2002; Corbeil et al., 2016). Despite fishing quotas and fishery closures, most populations are still declining and some have even collapsed (Lessard and Campbell, 2007; Raemaekers et al., 2011; Rogers-Bennett et al., 2011).

Haliotis tuberculata is a European abalone species distributed from the Normandy coasts of France to the coasts of northern Morocco (Clavier and Chardy, 1989). This gastropod lives on rocky shores (from the intertidal to 15 m depth) and remains cryptic throughout its life, sheltered under stones, or in caves and cracks (Forster, 1962; Clavier, 1987). Over the last two decades, a pathogenic bacteria (*Vibrio harveyi*) has led to severe population declines in France and the Channel Islands (Nicolas et al., 2002; Travers et al., 2009). Additionally, approximately 40 - 60 tons of abalone are harvested each year on the French coasts by professional divers (Huchette and Clavier, 2004). Despite the natural rebounding of most stocks, the aforementioned pressures led to the disappearance of several populations, particularly in the Channel Islands and Normandy (Huchette and Clavier, 2004). Stock enhancement and reintroduction of hatchery-reared abalone are, therefore, promising strategies to restore collapsed populations and preserve the sustainability of fishery activities.

Abalone stock enhancement programs have already been tested worldwide (Roberts et al., 2007; Searcy-Bernal et al., 2013). However, implantation of hatchery-reared abalone often results in high mortality rates (50 % - 100 %) in the first days post-settlement, as reported for various species: *Haliotis iris* in New Zealand (Roberts et al., 2007), *H. rubra* in Australia (Goodsell et al., 2006), *H. discus hannai* in Japan (Hamasaki and Kitada, 2008), *H. kamtschatkana* in Canada (Hansen and Gosselin, 2013), and *H. midae* in South Africa (De Waal, 2005). These mortality rates were consistently higher than those experienced by wild counterparts of the same age and habitat (Hamasaki and Kitada, 2008).

Predation, habitat quality and capacity, abalone age, shell length and density, handling stress, and protective structures have been examined to assess their impact on the mortality of seeded abalone (e.g. Schiel, 1993; Melville-Smith et al., 2013; Hofmeister et al., 2018; Carson et al., 2019).

During aquaculture, abalone are expected to undergo a domestication process, potentially affecting their ability to survive in the wild (Schiel and Welden, 1987; Hansen and Gosselin, 2016). Domestication is the process by which a cultured species becomes adapted to captivity conditions through both genetic changes occurring over generations and environmentally-induced developmental adaptations reoccurring during each generation (Price, 1984). Although the domestication of most aquatic organisms has only been actively pursued for 50 years, these domestication efforts quickly rendered results in some species due to a great potential for selection (Lorenzen et al., 2012). Domestication can reduce the genetic variability of organisms, as offspring are often obtained from a few spawning adults, resulting in genetic drift (Price, 1984; Grant et al., 2017; Harney et al., 2018). Furthermore, farm conditions and productivity targets (e.g. selection of fast-growing individuals) both result in intentional or unintentional selection. The simplified and predator-free environment of farms result in different behavioural responses from wild conspecifics, such as a decreased predator avoidance behaviours (Jensen, 2006; Jackson and Brown, 2011). As an example, Jackson and Brown (2011) showed that *Salmo trutta* exhibited decreased predator avoidance responses after two generations of selection (F2) compared to the F1 individuals.

The domestication of most abalone species has begun recently (Roussel et al., 2019), and only a few studies have characterized the potential effects of domestication on abalone behaviours. Lachambre et al. (2017 a) reported that three-year-old hatchery-reared *H. tuberculata* exhibited fewer reactions to stimulation of their foot compared to wild

specimens. Roussel et al. (2019) reported that adult *H. tuberculata* reared from farmed broodstock exhibited a decrease in predator avoidance compared to abalone from wild broodstock. However, no previous studies have determined whether these behavioural impairments occur in younger *H. tuberculata*, and the behavioural interactions between juveniles and predators are not well understood.

Therefore, our study assessed the effects of recent domestication on the anti-predator behaviours of 16-month-old *H. tuberculata* juveniles from hatchery-reared or wild parents, as well as their activity patterns and survival capacities. To address these questions, we used three different tests: (1) short-term anti-predator responses after contact with a starfish (*Marthasterias glacialis*) and after a simulated crab attack, (2) activity patterns in the presence or absence of a predator (the velvet crab *Necora puber*) in small aquariums over a 2-week period, and (3) survival rates with and without predators in a more complex environment over a 3-week period.

2. Materials and Methods

2.1. Animals and rearing

The experimental juveniles were reared from either wild or farmed broodstock. The wild broodstock was acquired by scuba diving in the Saint-Quay-Portrieux region (Brittany, France). The farmed broodstock was provided by the France Haliotis farm (Plouguerneau, Brittany, France), derived from the third generation of a selection program in which the breeders were the largest 5% (95th percentile) of their cohort. In June 2017, five males and ten females were selected in each broodstock pool for spawning. The resulting offspring were reared separately in experimental nursery tanks (l × w × h: 1.40 × 1.40 × 0.60 m, 1.17 m³) (n = 4 tanks per origin). In July 2018, after 13 months in the nursery tanks, the juveniles reached approximately 15–20 mm in shell length. A total of 150 individuals were randomly selected from each nursery tank and different-coloured plastic tags (two colours, depending on their origin) were glued onto their shells with cyanoacrylate glue to recognize their genetic background. These juveniles were transferred to three sea-cage compartments (l × w × h: 1.10 × 0.90 × 0.54 m, 0.53 m³ per compartment) equipped with three rows of 41 circular plastic oyster seed collectors (140 mm in diameter), which were used as shelters. Each cage compartment was filled with 400 experimental juveniles (n = 50 individuals from each nursery tank, n = 200 wild, n = 200 farmed). Additionally, 200 non-experimental juveniles were added

in each cage compartment to reach the usual farm rearing density. The sea cage was then transferred to the France Haliotis sea farm concession. The abalone were fed monthly with fresh hand-collected algae, including *Palmaria palmata*, *Laminaria digitata*, and *Saccharina latissima*.

2.2. Experimental procedure

In October 2018, when juveniles were 16 months old, the sea cage was transferred back to the laboratory facilities. The oyster seed collectors with the juveniles attached to them were stored in three holding nets (one per sea cage compartment) inside a nursery tank (hereinafter referred to as a “stock tank”; $l \times w \times h$: $6.00 \times 1.40 \times 0.60$ m, 5 m^3) supplied with $3 \mu\text{m}$ filtered seawater at least one week prior to the experiments (one week for the mesocosm test, 1 or 3 weeks for the activity pattern assay, and 3 - 4 weeks for the predator tests). The abalone were fed *ad libitum* with *P. palmata* during this period and were randomly selected for each of the experiments thereafter. All video analyses of abalone behaviour were blinded to avoid biases (i.e. the experimenter was naïve to the genetic background of the examined juveniles). All experimental juveniles were measured with a pair of callipers to the nearest 0.1 mm.

2.3. Predator tests

A starfish test and a crab test were performed between 13:30 and 17:30 over a five-day period. The abalone were tested in a glass aquarium ($l \times w \times h$: $50 \times 30 \times 18$ cm) filled with 7.5 L of seawater at the same temperature as their stock tank. A square grid was printed under the aquarium (Figure 1 A). The aquarium was cleaned three times between each juvenile to reduce potential chemical cues. Abalone from each genetic background were tested alternately ($n = 25$ per origin). Behaviours were recorded and annotated in real time with the Observer Video Pro software (Observer©XT, Noldus). Abalone shell length was measured after the test to avoid stress and bias prior to the behavioural analyses.

For the starfish test, individual abalone juveniles were randomly selected from the stock tank and positioned at the centre of the glass aquarium. Once the foot of a juvenile was attached to the bottom, typically after 30–60 s, a starfish arm (70 ± 15 mm length) was held in contact with it for 10 s and the behavioural responses of the abalone were monitored for 300 seconds. The following parameters were recorded: time spent moving (the abalone were considered to be moving when their speed reached 2 mm s^{-1}), the number of 5×5 cm squares

crossed, whether the abalone juvenile ejected mucus after contact with the starfish (ejection was defined as a white mucus secretion through the pores of the shell), and the time spent within a 10 cm radius from the starfish contact point.

For the crab test, individual abalone were transferred to a baked clay shelter (l × w × h: 17 × 6 × 6 cm). The shelter was U shaped and illuminated from the side so that the inside was dark, to encourage the abalone to clamp itself inside the shelter. After five minutes, the abalone foot and shell were pressed four times for 10 s with a metal clamp to simulate a crab attack. The abalone behaviours were monitored for 120 seconds after the clamping. The time spent moving and the delay before the first movement after clamping were recorded.

2.4. Assays of activity pattern, self-righting and hiding

Activity patterns were analysed over two 14-day periods. In each period 24 glass aquariums (n = 48 in total, l × w × h: 35 × 20 × 20 cm) prepared as illustrated in Figure 1 B were used, with three defined zones: a shelter zone (with rocks), an exposed zone, and an algae zone. The juveniles were provided with fresh algae each week and the quantities were adjusted to ensure *ad libitum* feeding. The aquariums were continuously filled with 3 µm filtered seawater and cleaned twice a week using a siphoning hose. The water temperature was measured twice a day (average ± standard deviation (sd) of 12.73 ± 0.85 °C and 12.42 ± 0.46 °C for 14-day periods 1 and 2). A 12:12 h photoperiod was established with light from 06:30 to 18:30 to mimic the natural cycle. To avoid abrupt light variations, we simulated dawn (06:00 to 06:30) and dusk (18:00 to 18:30) using a dimmer (Gold Star, Besser Elektronik). All aquariums were continuously videotaped using three digital cameras (TSWD6001HPSC, Sygonix) linked to a 24 h recording device (Media Recorder©XT, Noldus).

Half of the aquariums were randomly selected to be “predation aquariums” containing one velvet crab [average shell length ± sd of 39.1 ± 0.7 mm and 40.1 ± 0.9 mm for periods 1 and 2] and the other half contained no crab (i.e. “non-predation aquariums”). To ensure similar predation risks between predation aquariums, all crabs were males and had both of their chelae. Each aquarium contained three juveniles of the same genetic background. Abalone from each background were randomly allocated to the aquariums, with an equal number of groups from each genetic background for “predation” and “non-predation” aquariums.

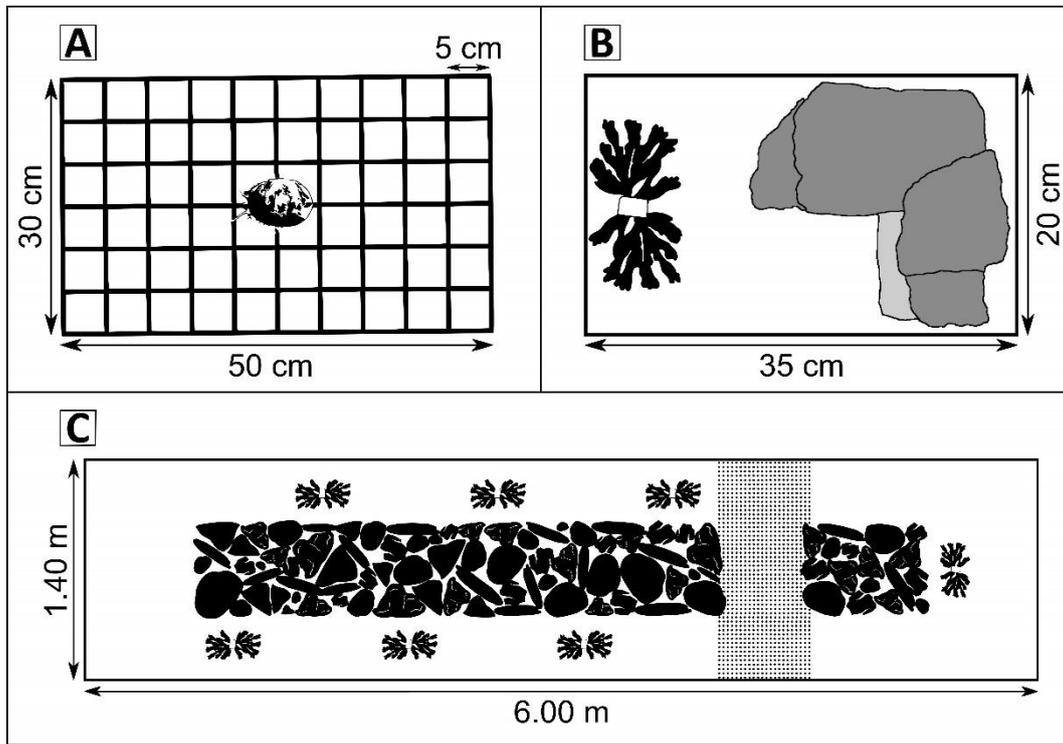


Figure 1 : Experimental apparatuses used in our study: (A) Predator test aquarium. (B) Activity pattern aquarium. The baked clay shelter on the right (light grey, $l \times w \times h$: $17 \times 6 \times 6$ cm) was surrounded by rocks, which in conjunction constituted the shelter zone. The piece of *Palmaria palmata* on the left constituted the algae zone. The remaining space constituted the exposed zone. Each aquarium contained three juveniles, with or without a single predator. (C) Mesocosm with two granite stone zones (2.0 and 0.5 m²) separated by a 50 cm strip of sand. Seven tufts of *Palmaria palmata* were spread over the floor in the exposed area around the stone zones to enable ad libitum feeding.

For night time tracking, a phosphorescent tag was glued to the crabs and abalone shells using cyanoacrylate glue. The crabs were transferred to the experimental aquariums 24 h prior to the start of the experiments and were provided with a baked clay shelter. The abalone were then placed on their backs at the top of the largest rock of each aquarium and exposed to the light (Figure 1 B). The time they spent to right themselves (i.e. the time required for the juvenile to adopt an upright position) and the time required to be completely hidden (i.e. located under a rock) were measured. Abalone activity patterns were recorded for 24 h on 5 different days (days $1, 2, 8, 9, 14$). The videos were analysed using the Observer Video Pro software (Observer©XT, Noldus) at 16 times the normal speed and slowed to 4 times when necessary. In each aquarium, the percentage of time spent moving and the percentage of time spent in the shelter zone were recorded. Further, the video recordings were analysed to determine the cause of abalone mortality for each day (from 1 to 14) based on two categories: (1) the crab actively searched and captured a sheltered abalone by moving the rocks

surrounding/covering it, (2) the crab captured the abalone while the latter was exploring the exposed or algae zones of the aquarium.

2.5. Mesocosm survival assay

The survival rates of abalone in the presence or absence of predators were measured in eight large mesocosms (Figure 1 C). These mesocosms were established in France Haliotis farm nursery tanks (l × w × h: 6.00 × 1.40 × 0.60 m), each of which featured two shelter zones. The shelter zones were composed of granite stones (between 5 and 40 cm in diameter), which covered 30% of the total ground surface and were arranged in double layers to maximise sheltering options. Seawater was constantly exchanged (375 L h⁻¹) with 3 µm filtered seawater and the water temperature was measured twice a day (average ± sd: 11.24 ± 1.56 °C). Given that the mesocosms were located outdoors, the photoperiod corresponded to the natural light cycle.

Among the eight mesocosms, four contained seven velvet crabs each (average shell length ± sd of 41.5 ± 3.8 mm; i.e. “predation mesocosms”) and four contained no crabs (i.e. “non-predation mesocosms”). This predator density was meant to mimic that of the North Brittany coastal environment based on personal observations. To ensure similar predation risks across all mesocosms, all crabs were males and had both their chelae. The crabs were transferred to the mesocosms 24 h prior to the experiment. Fifty juveniles (n = 25 from each genetic background) were then manually transferred to the largest section of the granitic zone of each mesocosm. After 20 days, the stones were turned over to count the remaining abalone and calculate the survival rates for both lineages.

2.6. Statistical analyses

All protocols and behavioural observations were designed to avoid pseudoreplication bias (Hurlbert, 1984; Milinski, 1997) and were fully blinded to prevent biases derived from any *a priori* knowledge of the abalone lineages.

For the predator, self-righting, hiding, and mesocosms tests, the behavioural and survival variables were analysed with a linear mixed-effect model (LMM) (Bates et al., 2012) using the “lmerTest” R package (R Core Team, 2019). The genetic background of the abalone juveniles (wild or farmed), the presence or absence of predators, and their interaction were considered fixed effects in the model. The abalone shell length was included in the model as a covariate with individual values or group means for the mesocosm test. Additionally, the

holding net ($n = 3$) and mesocosm number ($n = 8$) were considered random factors for the predator and mesocosm tests, respectively.

For the activity pattern trials, a linear mixed-effects analysis model was fitted *via* the restricted maximum likelihood (REML) method using the “nlme” R package (Pinheiro et al., 2017; R Core Team, 2019). To avoid pseudoreplication, the behaviours of the three abalone juveniles per aquarium were averaged. Moreover, the results from days 1–2 and 8–9 were averaged. The model accounted for the genetic background of the juveniles (wild or farmed), day (day 1–2, day 8–9, day 14), presence or absence of predators, period (1 and 2), a shell length covariate (averaged per aquarium), and the interaction between genetic background, day, and predator presence/absence as fixed effects. The aquarium number ($n = 48$) was considered a random effect. In addition, the model considered an autoregressive process of order 1 correlation structure.

To verify the statistical assumptions of LMM, homogeneity of variance was tested with Levene’s test and normality of residuals with Shapiro’s test. In addition, this verification was coupled with a graphical approach to verify if any special error structures were observed, as recommended by Harrison et al (2018). When the assumptions of residual normality and/or homoscedasticity could not be verified, Log ($x+1$), Inverse ($x+1$), or logit transformation (Warton and Hui, 2011) was conducted prior to the analyses. The transformation that satisfied the best linearity assumptions (statistically and graphically) was chosen. For post-hoc analysis, a contrast method based on estimated marginal means was coupled with Bonferroni correction using the “emmeans” R package. No outliers were removed from the analysis. However, if transformations were not sufficient to satisfied the linearity assumptions, a Wilcoxon’s nonparametric test was applied. Chi-squared or Fisher exact tests were used to analyse frequency data. All data were reported as least square means (lsmean) \pm standard error (SE) unless otherwise stated.

Effect of size estimates (ES) and their 95% confidence interval were calculated using the methodology described in Berben et al. (2012). They are based on the calculation of the standardized mean difference (Cohen’s d) using the means and standard deviations, and the odds ratio (OR) for the contingency table. The Cohen’s d or standardized mean difference (ES_{smd}) was calculated following the formula:

$$ES_{\text{smd}} = \frac{\bar{X}_{\text{farmed}} - \bar{X}_{\text{wild}}}{S_{\text{pooled}}}$$

$$\text{where } S_{\text{pooled}} = \sqrt{((n_{\text{farmed}} - 1)S_{\text{farmed}}^2 + (n_{\text{wild}} - 1)S_{\text{wild}}^2)/df}$$

were \bar{X}_{farmed} and \bar{X}_{wild} are the juveniles from farmed and wild broodstock means. S_{pooled} is the pooled standard deviation calculated from the standard deviations (S_{farmed} and S_{wild}) and the sample sizes (n_{farmed} and n_{wild}) for juveniles from the farmed and wild broodstock. $df = n_{\text{farmed}} + n_{\text{wild}} - 2$.

For estimating effect size for the activity pattern variables, effect size was calculated by averaging the behaviour measured during the 2-week recording ($n = 24$ aquariums per genetic origin). For the mesocosm test, the survival rate in the 8 mesocosms (with and without predators) was used to calculate the effect size ($n = 8$ per treatment). The 95 % interval were calculated following the explanation in Berben et al. (2012). If normality of the data was not verified, Cohen's d was calculated on normalized data. To better judge the importance of the difference between juveniles from the farmed and wild broodstock in the context of stock enhancement programs, a relative effect size (%) was calculated by back-transforming the means, and dividing the difference of farmed minus wild juvenile means by the average mean of both treatments multiplied by 100.

For the behavioural sciences, the effect sizes for the standardized mean differences are considered to be small with $ES_{\text{smd}} = 0.20$, medium with $ES_{\text{smd}} = 0.50$, large with $ES_{\text{smd}} = 0.80$ (Cohen, 1988). The narrower the confidence interval, the more precise the estimated size effect is (Berben et al., 2012). Odds ratios close to 1 indicate that exposure does not affect the odds of the outcome (Szumilas, 2010).

2.7. Animal handling post-experiment

All starfish and velvet crabs used in this study were caught during low tide in Brittany (France), after which they were kept in cages and fed regularly. All animals were released into their natural habitats at the end of the experiments. Furthermore, each abalone was examined once and stored in a separate stock tank after testing, then returned to their respective sea cages.

3. Results

The juveniles reared from farmed broodstock had significantly longer shell lengths than those derived from the wild broodstock ($W = 64943$, $P < 0.001$; average shell length \pm sd of 25.5 ± 5.0 mm and 23.4 ± 4.9 mm for farmed and wild juveniles, respectively).

3.1. Starfish test

Broodstock origin had no significant effects on the time spent moving ($F_{1,47} = 0.59$, $P = 0.445$), the number of squares crossed ($F_{1,47} = 0.09$, $P = 0.769$), the number of abalone ejecting mucus after contact ($F_{1,1} = 0.32$, $P = 0.571$), or the time spent near to the starfish contact point ($F_{1,46.5} = 2.47$, $P = 0.123$) (Table 1). Further, more than half of the individuals ejected mucus after a single contact with the starfish arm (26 out of 50) regardless of genetic background (Table 1). There was no significant effect of abalone shell length for these behavioural variables (Table 1).

^ε Log transformation; ^ζ Chi-square test.

3.2. Crab test

Behaviour	Wild origin	Farmed origin	Origin effect		Length effect		
	Least square means	SEM	F/H/X ²	P	F/H/X ²	P	
Starfish test							
Tableau 1 : Behavioural responses during the two predator tests conducted on <i>Haliotis tuberculata</i> juveniles from two genetic backgrounds (wild and farmed broodstock) n = 25 individuals per origin; all analyses were conducted via a mixed model unless otherwise stated. The results are reported as least square means ± SEM.							
Number of squares crossed	7.6	7.9	0.8	0.09	0.769	0.04	0.842
Number of abalone ejecting mucus after contact ^ζ	14 out of 25	12 out of 25	-	0.32	0.571	-	-
Time spent near to the starfish contact area ^ε	74.7	106.5	33.1	2.47	0.123	0.69	0.409
Crab test							
Time spent moving (s)	43.0	33.9	7.6	0.66	0.420	5.50	0.023*
Delay for first movement (s)	83.3	89.5	8.6	0.24	0.625	9.82	0.003*

Broodstock origin had no significant effects on the time spent moving ($F_{1,47} = 0.66$, $P = 0.420$) or the delay until the first movement ($F_{1,47} = 0.24$, $P = 0.625$) (Table 1). However, a significant effect of shell length on these two variables was observed (Table 1). The largest individuals spent less time moving and exhibited more prolonged movement delays compared to the smaller juveniles.

3.3. Righting and hiding

No significant effect of broodstock origin was observed for the time to right and to hide ($F_{1,138} = 0.65$, $P = 0.420$ and $F_{1,47.3} = 2.81$, $P = 0.100$, respectively). Furthermore, no significant effect of the interaction between broodstock origin and predator presence was obtained for the time to right and to hide ($F_{1,138} = 1.45$, $P = 0.230$ and $F_{1,47.3} = 0.57$, $P = 0.455$, respectively).

Finally, the abalone shell length did not significantly affect the times to right and to hide ($F_{1,138} = 1.47$, $P = 0.227$ and $F_{1,47.3} = 0.43$, $P = 0.514$, respectively).

3.4. Activity pattern

The interactions of abalone origin with the other factors were all non-significant for both the times spent in the shelter zone and the time spent moving (Table 2). Moreover, no significant differences in activity pattern were observed between juveniles from wild and farmed origins (Table 2).

However, the predator presence and the interaction between the predator presence and day significantly affected the percentage of time spent in the shelter zone and the percentage of time spent moving (see Figure 2 A and B and Table 2 for statistical results). During days 1–2, the abalone spent similar times moving and in the shelter zone regardless of predator presence. However, during the second week, the abalone spent more time in the shelter zone in aquariums with predators compared to the aquariums without predators (Figure 2 A). The time spent moving doubled in the aquariums without predators between days 1–2 and day 14, whereas it decreased more than 10-fold in aquariums where the juveniles were exposed to predators (Figure 2 B).

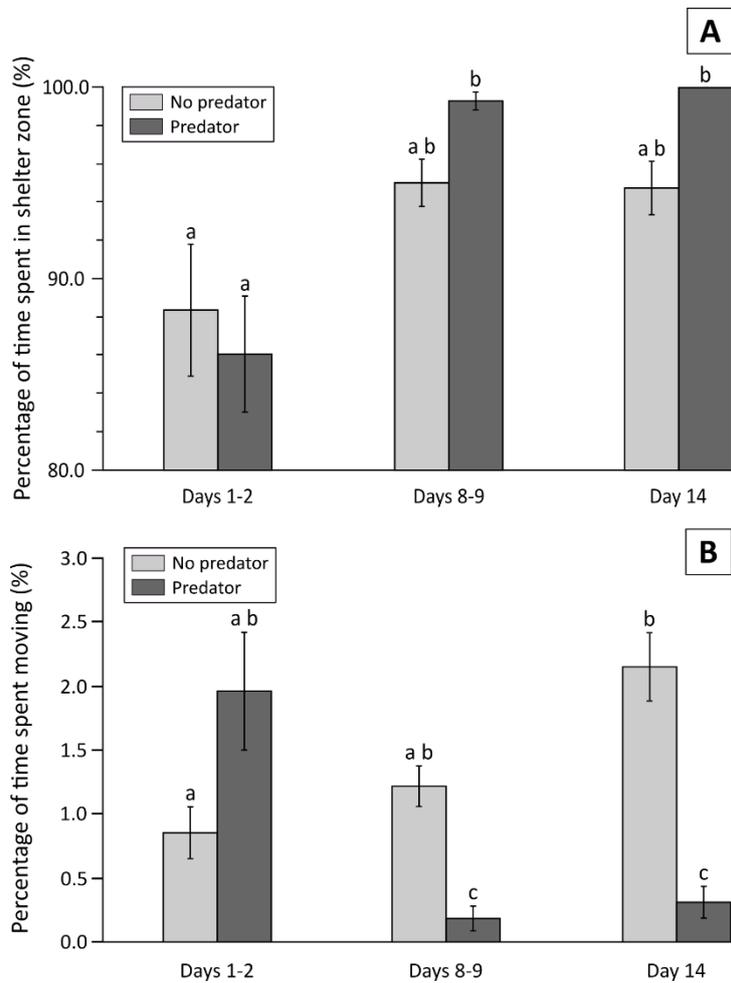


Figure 2 : Activity pattern of *Haliotis tuberculata* in the presence or absence of velvet crabs during a 14-day period (n = 24 aquariums per genetic background). Behaviours were analysed for 48 h during days 1–2 and days 8–9, and for 24 h on day 14. The columns and error bars represent the means and SEs. All data were analysed via a mixed model with a random aquarium effect. Post-hoc tests coupled with Bonferroni correction were then conducted. Values that have different letters (a or b) are significantly different ($P < 0.05$).

In the aquariums containing predators, more than half of the dead abalone (17 out of 29, 58.6 %) were captured by the crabs while they were exploring the exposed or algae zone. The remaining abalone (12 out of 29, 41.4 %) died after being captured by the crabs while inside the shelters. The cause of mortality was not dependent on the genetic background of abalone ($X^2 = 1.45$, $P = 0.273$, with $n = 18$ for juveniles from wild broodstock and $n = 11$ from farmed broodstock). The total mortality in the aquariums with predators represented 20.1% of the total number of juveniles. Approximately half of the cumulative mortality (55.2%) occurred during the first three days, with 86.2% occurring before 7 days (Figure 3).

Tableau 2 : Activity patterns of *Haliotis tuberculata* juveniles from wild and farmed backgrounds. All analyses were conducted using a mixed model. (N = 48 aquariums, full factorial model with n = 24 with/without predator and n = 24 from wild/farmed broodstock).

Factor	Time in shelter zone ^α		Time spent moving ^β	
	F	P	F	P
Abalone origin	0.41	0.524	0.10	0.752
Day (1-2, 8-9 and 14)	9.95	< 0.001	4.13	0.019
Predator presence	15.62	< 0.001	26.22	< 0.001
Period (1 or 2)	0.12	0.729	0.85	0.361
Shell length	0.56	0.457	0.01	0.908
Abalone origin × day	0.72	0.490	2.23	0.114
Abalone origin × predator presence	1.45	0.234	0.30	0.586
Day × predator presence	9.49	< 0.001	22.00	< 0.001
Abalone origin × day × predator presence	0.92	0.403	0.85	0.430

^α Logit transformation; ^β Inverse transformation.

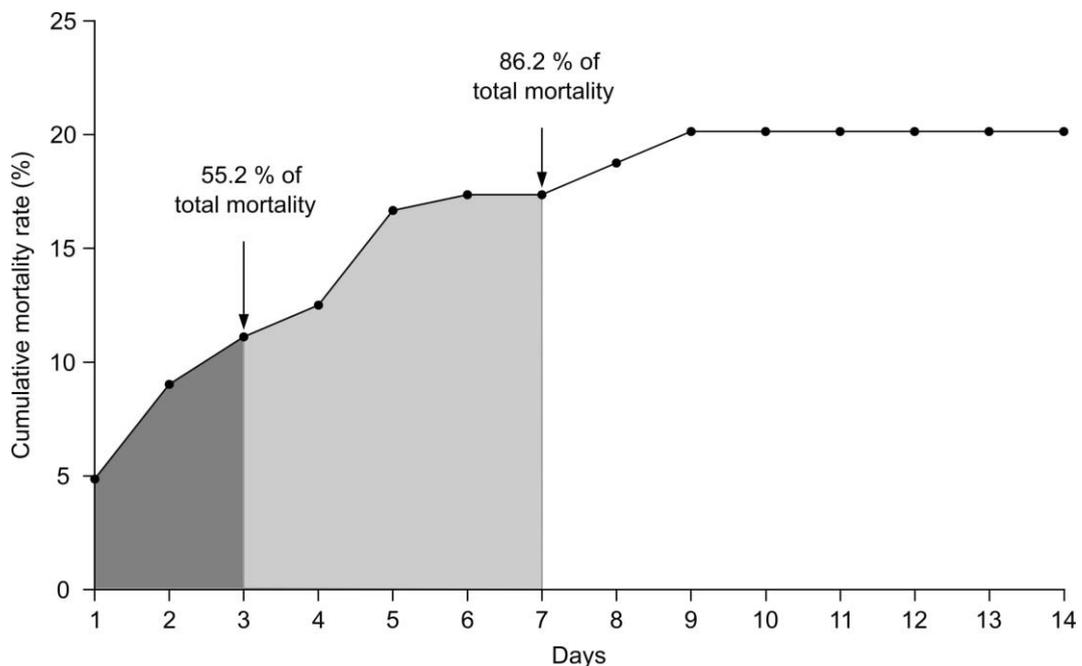


Figure 3 : Cumulative mortality rate (%) of *Haliotis tuberculata* juveniles in the predation aquariums over a 14-day period (n = 144).

3.5. Survival in mesocosms

The interaction between broodstock origin and predator presence did not significantly affect the survival rates in mesocosms ($F_{1,6} = 2.48$, $P = 0.166$). However, the presence of

predators had a significant effect on survival rates ($F_{1,6} = 11.27$, $P = 0.015$), with lower survival rates in the mesocosms containing crabs in comparison to the mesocosms without crabs after 20 days (50.5% and 91.4% on average, respectively) (Figure 4).

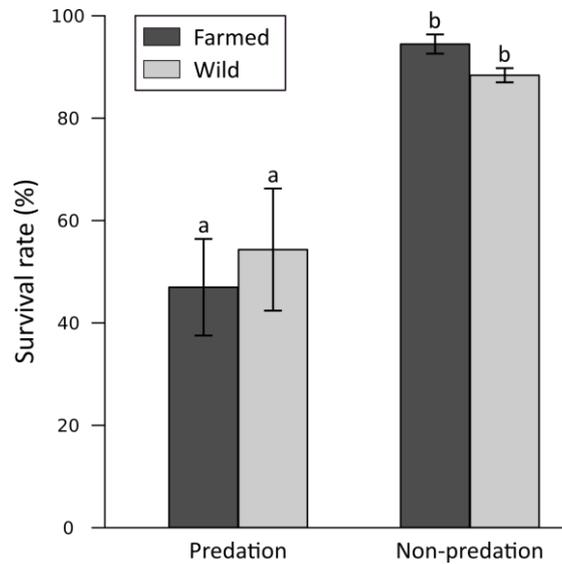


Figure 4 : Survival rates of *Haliotis tuberculata* juveniles from wild and farmed genetic backgrounds after 20 days in mesocosms each containing 7 velvet crabs (*Necora puber*) ($n = 4$) and mesocosms without predators ($n = 4$). Each mesocosm contained 25 juveniles from both genetic origins ($n = 50$). The data were analysed using a mixed model, the columns and error bars indicate the means and SEs. Values that have different letters (a or b) are significantly different ($P < 0.05$).

3.6. Estimated sizes of effects

As the effects of broodstock origin were not significant in the tests reported, it is necessary to consider whether these results are due to small and thus unimportant differences between the behaviours of juveniles from wild or farmed broodstock, or if the experiments were not replicated sufficiently to detect biologically important differences. The calculation of the effect sizes for the standardized mean differences showed that most of the effect sizes can be considered as small (supplementary table 1), with a 95% confidence interval overlapping zero. The response during the crab test and the time to hide were the behavioural variables with small to moderate effect sizes, indicating that approximately 30% of the area covered by both populations combined is not overlapped. The highest relative effects sizes were reported for the same variables. However, this effect was probably due to the significant length covariate effect, discussed below.

4. Discussion

4.1. Short-term behavioural responses to stressful situations

Upon contact with an arm of *M. glacialis*, a natural predator of *H. tuberculata* (Clavier, 1987), no significant differences were observed between the behavioural responses of the juveniles from each genetic origin, with small effect sizes for the variables recorded. The behavioural responses were qualitatively similar and were consistent with previously reported stereotypical behaviours (e.g. mucus ejection followed by an evasive move away from the contact area) (Bullock, 1953; Feder, 1963; Parsons and Macmillan, 1979; Day et al., 1995; Bancalà, 2009; Roussel et al., 2019). When the mucus is ejected, it drifts through the water and carries the smell of abalone and the starfish may therefore be unable to detect the abalone position (Day et al., 1995). A relatively high proportion of individuals ejected mucus, suggesting that the juveniles from both broodstock origins were able to detect the physical and/or chemical signals of the starfish (Bancalà, 2009; Kaiser et al., 2017).

Similarly, domestication had no detectable effects on the anti-predator responses of juveniles challenged with a simulated crab attack, with small to moderate effect sizes for time spent moving and delay for first movement, respectively. However, larger individuals exhibited longer movement latencies and moved less than smaller juveniles. According to Griffiths and Gosselin (2008), such behaviour could result from the inverse proportional relationship between predation risk and body size. Moreover, many gastropods become immobile when faced with a natural predator such as crabs (Aguilera et al., 2019), and abalone are known to exhibit two types of anti-predator strategies when attacked by a crustacean, which may be influenced by their shell length: (1) remain still and adhere strongly to the substrate or (2) move away to escape predation (Robinson et al., 2013).

Further, no significant differences in self-righting and hiding behaviours were observed between the examined lineages, with small effect sizes for both variables. Furthermore, the predator presence had no significant effects on the short-term behavioural responses of abalone juveniles, suggesting that the predators were not immediately detected. In the wild, the delay for execution of these two behaviours after outplanting is critical for survival. In fact, *H. tuberculata* limits most contact with predators by adopting an avoidance strategy consisting of cryptic behaviours and nocturnality (Clavier, 1987; Werner et al., 1995). The

capacity to quickly self-right and hide greatly reduces the likelihood of encountering predators (Shepherd, 1973; Tutschulte and Connel, 1988; Gao et al., 2016).

These results highlight that hatchery-reared abalone display anti-predator and avoidance behaviours that are similar, at least qualitatively, with those reported for their wild conspecifics (Bancalà, 2009; Robinson et al., 2013).

4.2. Activity pattern

Domestication had no significant effect on the time spent in shelter or moving of *H. tuberculata* juveniles when a predator was present, as demonstrated by the lack of a detectable interaction between predator presence and origin in our 14-day experiment, and confirmed by the small effect sizes obtained. These results are consistent with those obtained by Roussel et al. (2019) on three-year-old *H. tuberculata* reared from wild and farmed broodstock. Moreover, no previous studies have demonstrated any effects of domestication on activity patterns in abalone.

Nevertheless, the time spent moving and the time spent in shelter zone were significantly affected by the interaction between experiment day and predator presence. Although the juveniles initially spent a moderate proportion of time in the exposed zone, they exhibited much more cryptic behaviour (i.e. taking shelter under rocks) after less than a week. This initial period of high mobility might be attributed to handling stress or an exploration response elicited by the new environment. The presence of *Necora puber* resulted in a significant reduction in abalone movement over time. *H. tuberculata* is known to be nocturnal, so that most of its movements occur during night-time (Roussel et al., 2019). Therefore, the abalone may have detected the crab's nocturnal activity and thus decreased their movement relative to the juveniles that were not exposed to predators in their aquariums. It is also possible that the crabs captured the most active and exposed abalone in the first few days, and therefore the remaining individuals were more cryptic and less active. In fact, more than half of the cumulative mortality occurred during the first three days and 86% occurred during the first week, which was mainly attributed to abalone exposure. Thereafter, abalone mortality was mostly due to active crab predation on sheltered individuals, and most of the remaining juveniles remained hidden and immobile in the shelter zone.

4.3. Mesocosm mortalities

No significant differences in survival rates between the juveniles from the two genetic origins were observed in the mesocosm experiments and small effect sizes were obtained. High survival rates were observed in the mesocosms without predators, indicating that handling stress prior to seeding did not adversely affect survival rates over a 20-day period. In contrast, as expected, the presence of *N. puber* resulted in substantial mortality rates on both sets of juveniles. Due to their high densities and continuous exploratory behaviour, crustaceans are often major predators in intertidal and subtidal environments of the Atlantic coasts (Silva et al., 2008). Moreover, *N. puber* lives in the same depth range as *H. tuberculata* (Clavier, 1987; Hunter and Naylor, 1993) and can feed on large gastropods by cracking their shell (Norman and Jones, 1992; Silva et al., 2010). Despite the numerous hiding places provided by the rocks in the mesocosms, some abalone may have failed to find appropriate shelter regardless of genetic origin, thus becoming an easy target for predators. Nevertheless, as the juveniles were reared in farm structures (nursery tanks and sea-cages), and therefore had not previously encountered predators, this may have reduced the establishment of anti-predator behaviours in both groups (Straus and Friedman, 2009; Aguirre and McNaught, 2012).

Generally, the highest mortality rates occur within the first 3-weeks after seeding in the wild. In the mesocosms with predators, the abalone survival rates (> 50 %) were relatively high compared to those obtained after one to two years following *in situ* seeding (Griffiths, 2006). For example, after 17–20 months of outplanting, Roberts et al. (2007) recovered only 1.7 to 25.1% (average 13.8%) of *H. iris* juveniles depending on the site location. Carson et al. (2019) outplanted 20-month-old *H. kamtschatkana* juveniles and obtained 1-year survival rates that ranged from 0% to 23% across all tested sites. Juveniles of *H. laevigata* placed in two-layer piles of boulders at 8 sites (Dixon et al., 2006) suffered very high mortality rates at two of these sites, where there were high densities of starfish predators (*Coscinasterias muricata*), but lower mortality at the sites where these predators were less dense and there were more alternative prey.

Mesocosm assays allow researchers to isolate predator-induced mortality in a controlled environment, thus enabling them to infer causal conclusions (Spicer, 2014). In contrast, the impact of individual environmental factors on mortality cannot be dissected in field experiments. For example, mortality can also be influenced by food availability, intra- and inter-specific competition, waves, and currents (Naylor and McShane, 2001; Zeeman et al.,

2012). Additionally, mesocosms allow for the total recovery of live individuals, whereas survival rates in the wild are often likely underestimated due to the dispersal of individuals (De Waal et al., 2003; Griffiths, 2006). The *N. puber* density established in our mesocosm experiments (3 crabs per m² of rocks) was estimated based on observations of the apparent density of crabs in the subtidal zone of northern Brittany. Considering that predation appears to be the main driving factor of abalone mortality, the results of our mesocosm experiments provide the basis for a preliminary estimation of post-outplanting mortality rates. Further, our findings indicate that crustaceans are a major threat to the success of stock enhancement programs, and that the predation risk is highest shortly after the abalone are introduced to a new environment. Perhaps measures to control predators during this initial period after seeding would be useful.

4.4. Effects of domestication on European abalone juvenile behaviour

Juvenile abalone from both origins experienced similar environmental conditions during rearing. This “common garden” approach meant that the only difference between the organisms was their broodstock origin (Huntingford, 2004). Behaviour is often among the first characteristics that are modified, intentionally or not, during the domestication process (Price, 1999; Teletchea and Fontaine, 2014). Behaviour can be governed by individual or multiple genes (Jensen, 2006), whose expression can in turn be modulated by environmental cues (Lester et al., 2011; Jensen, 2015). Hence, the rearing methods of most hatcheries (limited broodstock, intentional or non-intentional selection) coupled with captivity conditions may substantially impair natural abalone behaviours (Price, 1984; Le Vay et al., 2007; Jackson and Brown, 2011). Additionally, some behaviours have been found to be heritable in molluscs. For example, Brokordt et al. (2012) reported that scallops (*Argopecten purpuratus*) whose parents were selected as a result of predation by the starfish *Meyenaster gelatinosus* significantly inherited their anti-predator responses ($h^2 = 0.36 - 0.57$). Another experiment demonstrated that abalone (*H. laevigata*) parental origin affected the distance and direction travelled after a stressful event. Specifically, individuals reared from farmed broodstock for three generations moved longer distances than their wild counterparts (Robinson et al., 2013). Moreover, Roussel et al. (2019) noticed significant alterations in the anti-predator behaviours of 3-year-old *H. tuberculata* after one generation of selection compared to juveniles reared from wild broodstock under the same conditions.

Unlike the aforementioned studies, our findings did not provide any evidence of behavioural alterations in farmed 1.5-year-old juveniles from selected broodstock compared to juveniles from wild broodstock. Indeed, the effect sizes were small for most of the behavioural variables, indicating that, if there were differences between the means for treatments, these differences were small. The fact that the data do not warrant the conclusion that the population means differ might have been due to the age of the studied individuals. Heritability estimates of growth-related traits have been found to increase over time in *H. tuberculata* (Lachambre, 2017). Moreover, Hansen and Gosselin (2013) noticed that the anti-predator behavioural deficits of 4-year-old hatchery-reared *H. kamtschatkana* were more pronounced than those of 1-year-old individuals.

While the juveniles from selected parents grew faster than the juveniles from wild parents (as would be expected), and larger juveniles did not react as quickly or move as far in response to the simulated crab attack, it seems very unlikely that the size covariate in the analyses masks the detection of differences between the two offspring groups. Day et al. (1995) observed that larger wild abalone (*H. rubra*) were less likely to be eaten on natural reefs and exhibited clamping and thrusting responses to starfish more often, rather than a fleeing response. Thus the effect of size on responses to the simulated crab attack in this experiment is expected, and very unlikely due to a correlation of size and parentage. The 2.1 mm difference between the mean sizes is small compared to the 5.0 and 4.9 mm standard errors of these means, so that the overlap of sizes between the groups is extensive.

It is also possible that the domestication process of *H. tuberculata* is too recent to render any observable modifications on the genes controlling the behaviours examined in this study. In fact, the majority of farmed marine species are either considered to be not domesticated or at the beginning of the domestication process (Taris et al., 2007; Teletchea and Fontaine, 2014). In the case of abalone, Lorenzen et al. (2012) classified these species as a mixture between wild and domesticated genetic backgrounds. But it should be noted that, in contrast to many farms on land where both the predators and their chemical cues are absent, the rearing process of the France Haliotis farm involves rearing in sea cages, where the chemical cues of crabs and starfish are present. It seems unlikely that abalone would respond more to predators as a result of previous exposure to their chemical cues alone, but we cannot discount this possibility.

5. Conclusions

Neither of the behaviours assessed herein was affected much by broodstock origin, and therefore the predator avoidance behaviours of farmed juveniles were deemed qualitatively consistent with those of their wild conspecifics. However, wild juveniles are subject to very different environmental pressures than juveniles reared in farms, and therefore we cannot conclude that the behaviours and mortality rates observed during our experiments would mirror those of wild individuals in the same conditions.

Instead, our findings suggest that juveniles reared from wild broodstock and those reared from a third-generation selectively-bred farmed broodstock will behave similarly if seeded in the wild. Additionally, our activity pattern analyses provided important insights into the importance of hiding behaviour and mobility during the first few days post-outplanting. In natural conditions, low predator density would benefit juveniles with active foraging behaviour (Lachambre et al., 2017 b). In contrast, high predator density would favour sedentary and cryptic individuals. Importantly, these observations highlight the potential role of inter-individual behavioural variations on population-wide survival (Roussel et al., 2020). Therefore, as the possibility to perform stock enhancement programs on *H. tuberculata* in France is considered, future studies should assess whether protective structures (e.g. cages), acclimation to these structures several days prior to seeding, and the characteristics of the outplanting sites (e.g. predator density, abalone seeding density) affect the initial mortality rates of *H. tuberculata* in the wild (Hansen and Gosselin, 2013).

Acknowledgements

The authors thank the team of France Haliotis: Sylvain Huchette, Guillaume Colin, Maryvonne Leroux, Alexandre Berthelot and Xavier Lesage for the provision and care of the animals and assistance during the experiment. This experiment was conducted at the France Haliotis abalone farm. Animals and some parts of the setup were supplied by the farm. This work benefited from the support of the European Union (FEAMP) via the program 26 of the FEAMP ‘innovation in fisheries’ through the ‘Ourmel’ project.

Supplementary data

Supplementary table 1: Effect sizes (Standardized mean differences – ES_{smd}), % of variation and their confidence limits for tests of the effects of broodstock origin.

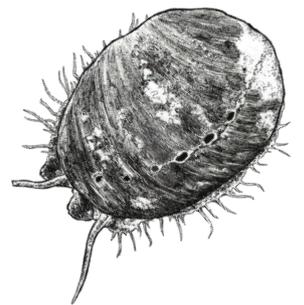
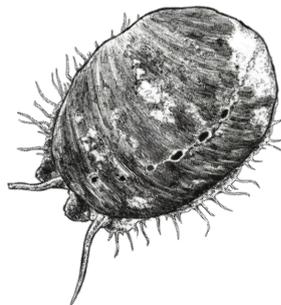
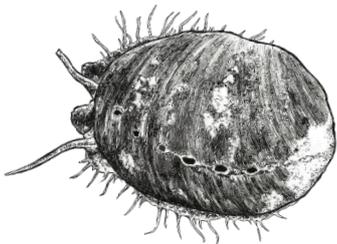
Test	ES_{smd}	95% confidence interval	Relative effect size
Starfish test			
Time spent moving	0.18	[-0.37; 0.74]	7.1 %
Number of squares crossed	0.11	[-0.45; 0.66]	4.7 %
Time spent near to the starfish contact area ^ε	0.34	[-0.22; 0.90]	25.9 %
Crab test			
Time spent moving	-0.46	[-1.02; 0.11]	- 46.0 %
Delay for first movement	0.42	[-0.14; 0.98]	22.3 %
Activity pattern in aquarium			
Percentage of time in shelter zone ^α	0.12	[-0.22; 0.45]	- 0.9 %
Percentage of time spent moving ^β	0.05	[-0.29; 0.38]	- 4.3%
Righting and hiding test			
Time to right	0.2	[-0.12; 0.53]	26.7 %
Time to hide	- 0.3	[-0.63; 0.02]	- 61.5 %
Mesocosm			
Survival rates	-0.02	[-1.00; 0.96]	- 0.9 %

Data normalised before Cohen’s d calculation: ^α Logit transformation, ^β Inverse transformation, ^ε Log transformation



Erwan AMICEO cnrs

CHAPITRE 2



Réponses comportementales de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*) soumis à une privation de nourriture et à des stress lors de la préparation de l'implantation : Implications pour des programmes de soutien de stocks

Behavioural responses of European abalone (*Haliotis tuberculata*) to starvation and seeding preparation procedures: Implications for stock enhancement programs

Chauvaud Pierre¹, Muller Julie², Grall Jacques¹, Charrier Gregory¹, Roussel Sabine¹

Affiliation

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

² Université de la Sorbonne, Paris.

Chapitre à soumettre dans *Applied Animal Behaviour Science* en 2022

Contexte et résumé de l'étude

Lors d'expérimentations de repeuplement réalisées dans le milieu naturel, des mortalités pré et post-implantations ont été interprétées comme étant liées aux épisodes de stress induits par les manipulations, l'exondation et la privation de nourriture (Clavier, 1987; Lebata-Ramos et al., 2013). L'objectif de ce chapitre a donc été de déterminer si le stress maximal auquel des individus de *H. tuberculata* pourraient être exposés avant d'être implantés pouvait avoir des effets délétères sur leurs réponses comportementales et leurs taux de survie en présence ou non de prédateurs. Des juvéniles élevés en éclosérie et issus de parents sauvages (Saint-Quay-Portrieux), ont été soumis à deux niveaux de nutrition (nourris *ad libitum* et sous-nourris pendant 10 jours), ainsi qu'à deux niveaux de stress (manipulations et exondations faibles ou prolongées). Ceci permettait d'avoir quatre traitements distincts.

Les réponses comportementales des juvéniles de ces quatre traitements ont été étudiées à court terme en analysant leur capacité à se retourner, à s'abriter et à échapper à

un prédateur (l'étoile de mer *Marthasterias glacialis*). De plus, leur rythme d'activité a été suivi de jour et de nuit sur une période de 10 jours à l'intérieur d'aquariums. Enfin, leur capacité à échapper à des prédateurs a quant à elle été étudiée en les exposant pendant 10 jours à des étrilles (*Necora puber*), à l'intérieur de mésocosmes de 260 L.

Les résultats suggèrent que le stress causé par la manipulation et l'exondation a été responsable de modifications des réponses anti-prédatrices, avec des individus qui se sont moins déplacés en présence de prédateurs et qui ont mis plus de temps à s'abriter. La privation de nourriture a quant à elle entraîné une plus forte propension à s'alimenter au cours de la première nuit post-implantation lors du suivi du rythme d'activité. Les taux de mortalité sont restés très faibles à l'intérieur des mésocosmes en absence de prédateurs. En revanche, la présence de prédateurs a significativement augmenté les taux de mortalité, pour les quatre traitements. Ces résultats démontrent que le stress causé par une restriction alimentaire ainsi que par des manipulations et des exondations n'a pas altéré les chances de survie des juvéniles en laboratoire, même s'il a entraîné plusieurs changements comportementaux lors des tests comportementaux à court terme.

Abstract

Several populations of the European abalone (*Haliotis tuberculata*) disappeared over the last decades. The application of stock enhancement programs is a promising way to restore these populations or to preserve fishing activities. Specifically, this practice consists of releasing hatchery-reared juveniles into natural environment. The seeding of abalone requires a preparation and transport phase during which the abalone could be starved and stressed. These phases are considered as major threats to subsequent survival of juveniles.

Juveniles of 23-month-old *H. tuberculata* from wild broodstock were exposed to four pre-seeding treatments combining two degrees of nutrition (fed or starved) and two degrees of stress (mild or severe). To study the effects of these stressors on acclimation after seeding in the wild, the abalone behaviour and survival were analysed using three assays: (1) short-term responses to simulated contact with predator, and latency to hide and right, (2) activity pattern during 10 days post-seeding (3) survival after 10 days in mesocosms with or without predators (2 velvet crabs). The severe stress induced higher latency to hide and modified several behaviours following predator contact. In addition, starvation increased the time that juveniles spent feeding during first night. No significant effects of starvation nor stress were

obtained on survival rates in mesocosms, independently of predator presence. The crabs significantly decreased the survival rates for the four treatments, with maximum mortality when 2 crabs stayed operational, suggesting a predator density effect on the mortality.

These results suggests whereas severe stress conditions and starvation induced respectively changes in short-term behavioural responses and in feeding activity pattern, this not have significant impacts on the survival rates in presence of predators. However, as the high mortality immediately after seeding is likely due to a lack of hiding behaviour or to the exploration of the new environment, it could be appropriate to use release systems adjusted to the ethological characteristics of the European abalone.

Keywords: *Haliotis tuberculata*, behaviour, predation, starvation, stress, stock enhancement

1. Introduction

Over the last decades, overfishing as well as disease outbreak have been the main factors responsible for the decline in populations of commercial abalone species in the world (Huchette and Clavier, 2004; Searcy-Bernal et al., 2013; Hansen and Gosselin, 2016). To maintain fishing activities and restore collapsed populations, numerous countries initiated stock enhancement programs, using hatchery-reared abalone (Hamasaki and Kitada, 2008).

Haliotis tuberculata is the single European abalone species, distributed from the Cotentin in France to the North of the Moroccan coasts (Clavier and Chardy, 1989). This gastropod lives on rocky substrates, from the lower foreshore to 15 m depth (Clavier, 1987). This species has a patrimonial value on the French coasts and it is targeted by a professional fishery in dive (40 – 60 tons each year), as well as by a recreational fishing (Huchette and Clavier, 2004). Over the last two decades, a pathogenic bacteria (*Vibrio harveyi*), virulent when sea reaches 17 °C during spawning period, has caused a severe decline on several local populations (Nicolas et al., 2002; Travers et al., 2009). Despite natural rebuilding of most stocks, some local populations have failed to recover their ancestral size, notably in Normandy and Channel Islands coasts (Huchette and Clavier, 2004).

To restore these populations, the release of hatchery-reared abalone is under consideration. However, research on stock enhancement of *H. tuberculata* in France is in its infancy. Worldwide, in spite of significant logistical resources, most stock enhancement

programs resulted in high abalone mortality rates (commonly 50 – 100 %), during the early days post-seeding for *Haliotis kamtschatkana* in Canada (Hansen and Gosselin, 2016), *H. rubra* in Australia (Goodsell et al., 2006), *H. discus hannai* in Japan (Hamasaki and Kitada, 2008), *H. iris* in New Zealand (Roberts et al., 2007). Only two attempts were conducted on *H. tuberculata* by Clavier (1987). The first one resulted in high mortality rates after one year (82 %) in the wild and the second has led to high mortality rates during the different handling and transport procedures (66 %), but with lower mortality rates in the wild (about 40 %), probably due to the use of seeding protective structures. Such mortalities events are constantly higher than those undergo by wild counterparts of the same age and from the same habitat (Clavier, 1987; Schiel and Welden, 1987; Straus and Friedman, 2009).

The predation is considered as the main element among the biological and environmental factors that explains the high mortality rates of hatchery-reared abalone in the wild (Griffiths and Gosselin, 2008; Hansen and Gosselin, 2013; Hofmeister et al., 2018). However, others factors such as implementation site quality and capacity (DeFreitas, 2005; Hart et al., 2013), abalone age, shell length and density (De Waal et al., 2003; Goodsell et al., 2006), degree of domestication (Lorenzen et al., 2012; Roussel et al., 2019; Chauvaud et al., 2021), and use of seeding protective structures (Hansen and Gosselin, 2013) are also highlighted for their direct or additive effects on initial mortality rates. As example, De Waal et al. (2003) implanted hatchery-reared juveniles of *H. midae* of two sizes (14 and 26 mm), and obtained better recovery rates with bigger individuals, in comparisons to smaller ones. In addition, Schiel (1993) performed seeding of 80 000 hatchery-reared *H. iris* on eight rocky sites and obtained various mortality rates (from 50 % after 2 years to 100 % after 1 year), mainly attributed to movement of sand and burial of the habitat. Hence, before undertaking stock enhancement programs, the factors limiting the seeding success need to be detected and analysed (McCormick et al., 1994; Blankenship and Leber, 1995; Kitada, 2018).

Other stressors such as starvation, preparation and transport before seeding have been suspected as key parameters that could reduce survival in the wild (Clavier, 1987). However, their effects on abalone behaviours and mortalities have been poorly documented, notably for *H. tuberculata*. The seeding preparation is often associated with a starvation period of few days, which have been reported to influence the subsequent behaviours (e.g. foraging activity) in some abalone species. Indeed, Buss et al. (2015) observed that three-year-old juveniles of hatchery-reared greenlip abalone (*H. laevigata*), restricted in food for 13 days

in laboratory had greater movements and started feeding earlier, before sunset, in comparison to non-restricted individuals. Moreover, in a laboratory experiment, Lloyds and Bates (2008) observed that rationed 3-year-old juveniles of hatchery-reared northern abalone (*H. Kamtschatkana*, 5 % body weight every 3 days) spent more time foraging than their non-rationed counterparts (20 % body weight every 3 days).

The abalone are usually handled and emerged during the packing and transport to seeding sites (De Freitas, 2005; Goodsell et al., 2006; Hansen and Gosselin, 2013; Hofmeister et al., 2018). It has been observed that these procedures could drive behavioural changes during several days. As example, Kaiser et al. (2017) observed higher activities over two nights after minor disturbance on hatchery-reared *H. midae* individuals of 28-30-month-old. Furthermore, these procedures can have an impact on subsequent abalone survival. Indeed, abalone have a limited aerobic metabolism in the air, due to the collapse of their gills (Nam et al., 2020). Hence, when they emerge, the abalone are susceptible to switch to an anaerobic metabolism, which is usually use only for the adhesion or quick movements, and thus to be more sensitive to other environmental stressors (e.g. thermic increase, predator encounter) (Morash and Alter, 2016). As example, during a 7h transport duration, Schiel (1993) obtained mortality rates ranging from 1.5 to 47 % for hatchery-reared abalone (*H. iris*) of 10 mm shell length.

The purpose of this study was to estimate the potential consequences of the stressors experienced during the pre-seeding period on behaviour and survival post-seeding of *H. tuberculata* juveniles. A full factorial experiment was used to test the effects of nutritional status (fed or starved), and stress procedure encountered during preparation and transport (mild or severe stress). Tests with different time scale and environmental complexity were used. (1) Short-term behavioural responses to situations that could be encountered during the first hours or days post-seeding (righting, search for a hiding place and response to predators). (2) Week-observations in laboratory to follow the abalone activity pattern. Indeed, the behaviours during this initial period has been shown to be determinant to survive to the presence of predator (Chauvaud et al., 2021). (3) Survival rate in more complex environment in presence or absence of predators over a 10-day period.

2. Material and methods

2.1. Animals and rearing

The juveniles originated from wild *H. tuberculata* broodstock, collected in May 2018 during a dive in Saint-Quay-Portrieux (Brittany, France) and conditioned for one month in the France Haliotis farm (Plouguerneau, Brittany, France). In June 2018, spawning was stimulated by exposition to UV light and heated filtered seawater (from 18 to 21°C). The eggs spawned by 4 females were equally pooled and divided in 5 groups, corresponding to the number of males that spawned. To avoid spermatic competition and optimize the representation of the parent genetic diversity, each male fertilized one of the five egg groups (Harney et al., 2018). After five days, the larvae were allowed to settle inside two nursery tanks (l x w x h: 6.00 x 1.40 x 0.60 m, 5 m³), containing 480 plastic plates each (0.6 x 0.3 m) covered by the microalgae *Ulvella lens*. After 17 months, in October 2019, juveniles reached around 15-20 mm in shell length. They were transferred inside four sea-cage compartments (l x w x h: 1.10 x 0.90 x 0.54 m, 0.53 m³ each), equipped with ten rows of 41 circular oyster seed collectors (140 mm in diameter), used for sheltering. The sea cages were disposed inside the France Haliotis sea farm concession. After three supplementary months, 2000 juveniles were transferred for five months inside 20 smaller experimental cages (n = 100 by cage, l x w x h: 0.80 x 0.50 x 0.30 m, 120 L), equipped with two rows of 21 circular oyster seed collectors. The abalone were not handled during this procedure and the emersion time not exceed 10 minutes. In sea cages the abalone were fed monthly with fresh hand-collected algae (*Palmaria palmata*, *Laminaria digitata* and *Saccharina latissima*).

2.2. Experimental procedure

In May 2020, when juveniles were 23-month-old, the experimental cages were brought back to the laboratory facilities. A full factorial design was applied to study the effects of nutritional degree and stress procedure on the behaviour and survival rate of the abalone post-seeding. The 20 cages were randomly attributed to one of the four treatments. The experimental cages were disposed inside one large tank (l x w x h: 4.50 x 2.00 x 1.30 m, 12 m³), supplied with 3 µm filtered seawater during 10 up to 22 days before application of the stress procedures. Over this period, half of the cages were fed with *Ulva lactuca* and *S. latissima* (n = 10, fed treatment) while any remaining algae were removed from the other cages (n = 10, starved treatment).

The mild stress treatment consisted in simulating a procedure of abalone preparation and transport before seeding in the wild, with minimal stress factors. The day preceding experimental tests, abalone were removed from collectors and disposed inside a seeding

support (i.e. one oyster shell disposed in a small net, 4-5 abalone by shell), with an emersion time under 30 minutes (Figure 1 A). The nets were disposed in one nursery tank (named stock tank, $l \times w \times h$: 6.00 × 1.40 × 0.60 m, 5m³). The next day, a short transport simulation was performed, with 1 h of air exposure and a careful handling of the seeding supports. For each experimental test, this procedure was applied to half of the fed and starved individuals.

The severe stress treatment consisted in simulating the most stressful conditions that *H. tuberculata* juveniles could encounter during preparation and transport before seeding on the Brittany coasts. The day preceding experimental tests, abalone were removed from collectors and shaken for 20 minutes to simulate a screening selection procedure (Lachambre et al., 2017) (Figure 1 B). After one supplementary hour in air without shaking, they were dislodged again and disposed inside a seeding support (i.e. one oyster shell disposed in a small net, 4-5 abalone by shell). The abalone had a maximum emersion time of 1.5 h. The nets were placed in one nursery tank (named stock tank, $l \times w \times h$: 6.00 × 1.40 × 0.60 m, 5m³). The next day, abalone were air exposed during 5 h, corresponding to the maximum transport time between the farm and seeding sites in Brittany. During these 5 h, the seeding supports were shaken twice two minutes to simulate unloading procedures. This severe stress procedure was applied to the other half of fed and starved juveniles.

The abalone behaviours were recorded in direct or from videos using the software Observer Video Pro (Observer ©XT, Noldus). To avoid unconscious bias during data recording, the experimenter recording the behaviour had no indication on abalone treatment. To limit unwanted stress during tests, all the experimental juveniles were measured with a calliper (to the nearest 0.5 mm) and weighted (mg precision) at the end of the experimental tests. Moreover, juveniles were used once and stocked in a second nursery tank after being tested, to avoid any stress chemical stress cues on the other juveniles of the stock tank. The starfish *Marthasterias glacialis* and the velvet crab *Necora puber* were used as predator species in the starfish and mesocosms tests, respectively. Both were caught during low tide in Brittany (France), and released at the end of the tests.

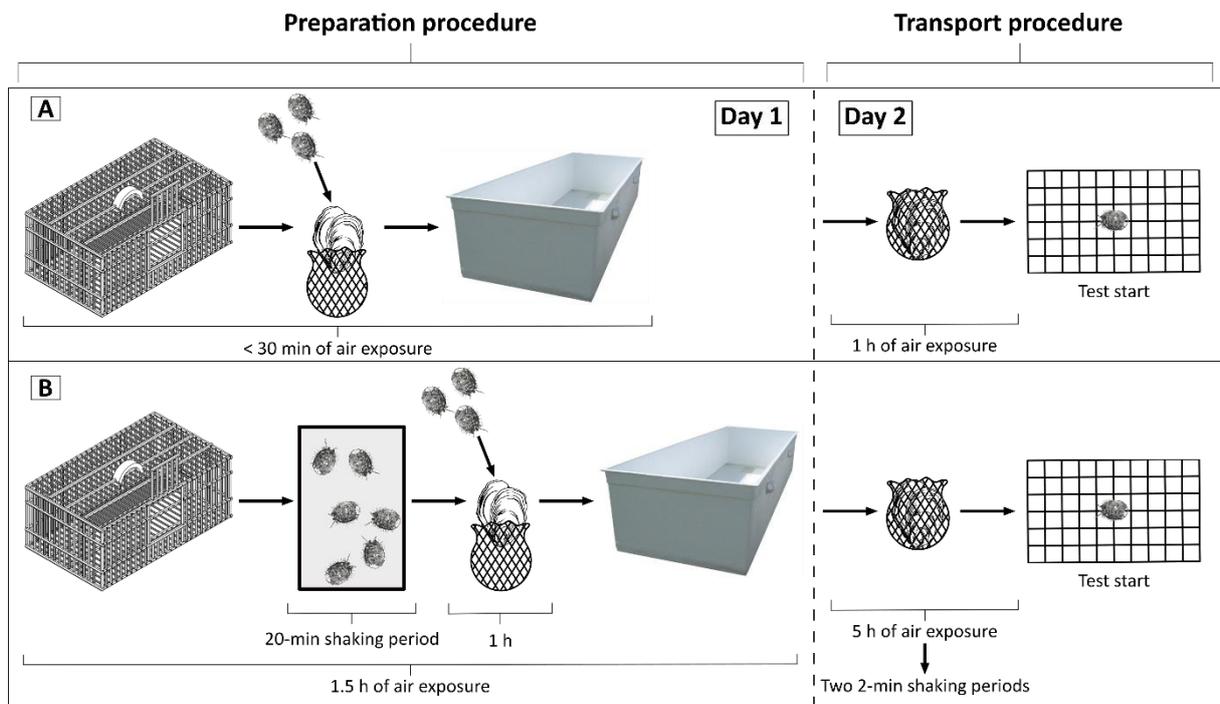


Figure 1 : Schematic presentation of the stress applied to abalone during preparation and transport procedures. (A) Mild stress procedure with limited air exposure and disturbance over the two days. (B) Severe stress procedure with longer air exposure and shaking during the preparation and transport procedure. The experimental tests started straight after the transport simulation of the day 2.

2.3. Short term behavioural tests

Three short-term behavioural tests were performed following the end of the transport procedure of the day 2. A righting and a hiding test were realised to record the time needed by juveniles to right and hide. A predator test (exposition to the starfish *M. glacialis*) was done to study the abalone anti-predator responses (Roussel et al., 2019). For each test, the abalone from the four treatments were tested alternatively (n = 25 juveniles per treatment for the righting and hiding tests, n = 20 for the starfish test) between 02:00 to 06:00 PM over a 5-day period. The aquariums were cleaned three times between each individual to reduce potential chemical cues from preceding individual or from the predator (for starfish test).

In the righting and hiding tests, the abalone were tested in glass aquariums (l x w x h: 35 x 20 x 20 cm) filled with 5 L of seawater. A baked clay shelter (l x w x h: 17 x 7 x 7 cm) was added for the hiding test (Figure 2 A). In the righting test, the juvenile was disposed on its back in the aquarium centre. The time to right themselves was recorded (Table 1). For the hiding test, the abalone was disposed on its foot at one side of the aquarium (Figure 2 A). The time to hide (i.e. reach the baked clay shelter) was recorded (Table 1). For both tests, a maximum duration of 300 s was allowed.

The starfish test was done in a resin tank (l x w x h: 2.50 x 0.40 x 0.15 m) filled with 50 L of seawater (Figure 2 B). The abalone was disposed in the centre of the tank. Once its foot was attached to the bottom, usually after 30 – 60 s, it was held in contact with a starfish arm (70 mm length) for 10 s. Thereafter, the time spent moving and the time spent near the starfish contact point were recorded for 180 s (Table 1). Moreover, the distance travelled from the starfish contact point was measured at the end of the test to the nearest 0.5 cm.

Tableau 1 : List and definition of the behaviours recorded during short-term tests.

Experiment	Number of abalone from each treatment	Behaviours	Definition
Righting test	25	Time to right (s)	Foot hung on the substrate
Hiding test	25	Time until first movement (s)	Movement of the foot > 2 mm.s ⁻¹
		Time to hide (s)	Juvenile completely hidden inside the backed clay shelter
Starfish test	20	Time spent moving (s)	Movement of the foot > 2 mm.s ⁻¹
		Time spent near the starfish (s)	Time spent inside a 30 cm radius from starfish contact point (Zone 1)

2.4. Diurnal rhythm

This test was conducted to analyse the effects of nutrition and stress procedures on the foraging activity and sheltering behaviour of abalone during the first ten days after seeding. A total of 48 aquariums were set up with three zones identified: shelter, exposed and algae zone (Figure 2 B). Aquariums were continuously filled with 3 µm filtered seawater and cleaned twice a week. The algae quantity was adjusted to ensure *ad libitum* feeding with at least 20 g of *U. lactuca*, renewed after 5 days. Water temperature was measured twice a day (15.86 ± 0.60 °C, mean \pm sd). A 12:12 h photoperiod was set up with light from 06:30 am to 06:30 pm, following the natural cycle. To avoid rapid light variation, a dawn (06:00 to 06:30 am) and dusk (06:00 to 06:30 pm) were adjusted using a dimmer (Gold Star, Besser Elektronik).

All aquariums were continuously videotaped, using four digital cameras (GigE camera, 0,1 lux sensibility) linked to a 24 h recording device (Media Recorder©XT, Noldus).

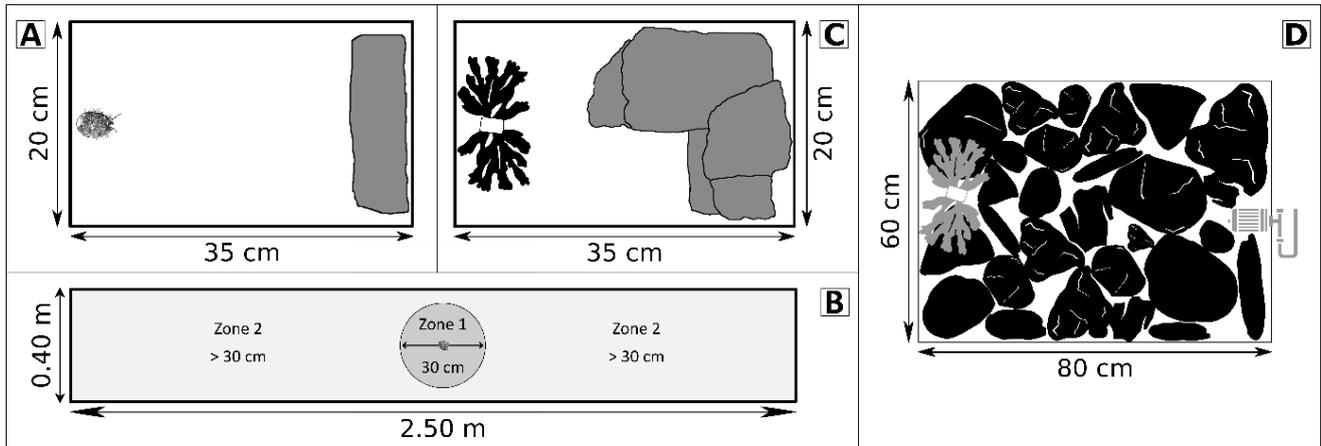


Figure 2 : The four experimental devices: (A) Aquarium used for righting and hiding tests, comprising a baked clay shelter on the right for hiding test ($l \times w \times h$: $17 \times 6 \times 6$ cm). (B) Aquarium used for the starfish test. Two zones were designed, depending to the distance from the starfish arm contact point. (C) Aquarium used during the diurnal rhythm experiment. On the right, five rocks formed the shelter zone. On the left, a piece of *Palmaria palmata* constituted the algae zone, while the remaining space was the exposed zone. (D) Mesocosm with two layers of granitic stones (0.48 m^2), one piece of *P. palmata*, a pump to simulate current and an O_2 bubbling system.

Each aquarium contained only three abalone, from the same treatment. Treatments were randomly distributed in the 48 aquariums using a random draw ($n = 12$ aquariums by treatment, $n = 36$ abalone by treatment). Three types of phosphorescent tags were glued to the three abalone shells to allow individual tracking. Abalone behaviours were tracked 24h a day for three days (days 1, 5 and 8). The software Observer Video Pro (Observer©XT, Noldus) was used to analyse the videos at 16 times normal speed and slowed to four times when necessary. For each abalone, three following variables were analysed. 1) The percentage of time spent moving in exposed zone during light period, that is an indicator of stress for abalone and increases the chance to encounter predators. 2) The percentage of time spent in the algae zone during night period to quantify the feeding behaviour. 3) The time spent in shelter zone during night period, considered as a passive behaviour that ensure abalone safety

2.5. Abalone survival in mesocosms

The abalone survival rate with or without predators was estimated over a 10-day period in mesocosms and was replicated once. A total of 24 mesocosms was set up per repetition. The mesocosms consisted in large plastic tanks ($l \times w \times h$: $0.80 \times 0.60 \times 0.55$ m, 260 L), containing two layers of granitic stones covering the whole surface (0.48 m^2) (Figure 2 D). The algae *P. palmata* and *U. lactuca* were added on the stones and maintained on the bottom with a clay ring, in sufficient quantity to ensure *ad libitum* feeding. Seawater was constantly

renewed (50 l.h^{-1}) with $3 \mu\text{m}$ filtered seawater. Current action was simulated using a pump (Jecod, Sow 8), and O_2 bubbling was done with an air stone disposed on the bottom. Because mesocosms were located outside, the photoperiod corresponded to the natural cycle. Water temperature was measured continuously, using three HOBO temperature sensors (17.42 ± 1.77 and 16.10 ± 1.41 °C for repetitions 1 and 2 respectively, mean \pm sd).

Half of the mesocosms were randomly assigned to contain two velvet crabs each (*N. puber*) (i.e. predation mesocosms) and the remaining contained no predators (i.e. non-predation mesocosms). To ensure similar predation risks, all crabs had their two pliers, and similar shell length (from 49 to 63 mm, 55.6 ± 4.0 mm, mean \pm sd). They have been acclimated 24 h in the mesocosms before the start of the test and fed with limpet foot (*Patella vulgata*). Each mesocosm contained 20 abalone ($n = 5$ from each treatment, one juvenile randomly sampled from each of the 20 experimental cages). Juvenile treatment was identified with coloured plastic tags fixed on the abalone shell with cyanoacrylate glue during the preparation period (four colours corresponding to the four treatments). The abalone were disposed in the mesocosms inside their seeding supports (i.e. oyster shells). After 10 days, the stones were turnover to search abalone and calculate the survival rates per treatment. For the second repetition, the starvation period was of 22 days instead of 10 days. At the end of the test half of mesocosms with predators contained at least one moulted crab. Crabs are not able to perform their predatory role during moulting event. Because it was not possible to determine the period of moulting during the 10 days, the mesocosms with moulted crabs were still considered as “predation mesocosms”. However, a supplementary analysis was conducted taking into account the number of crabs that moulted.

2.6. Statistical analyses

The test protocols and statistical analyses were designed to avoid any pseudoreplication bias (Hurlbert, 1984; Milinski, 1997) and included verification of the observer blinding during behavioural recording and analysis.

For the hiding, righting and starfish tests, the behavioural data were analysed with linear mixed-effect models (Bates et al., 2012), contained in the “lmerTest” R package (R core Team, 2019). The factors nutrition (fed or starved), stress procedure (mild or severe stress) and their interaction were included as fixed effects in the models. In addition, the cage provenance ($n = 20$) was included as random factor.

For the diurnal rhythm experiment, a linear mixed-effects model was used, fit by REML using the “nlme” R package (Pinheiro et al., 2017; R Core Team, 2019). To avoid pseudoreplication, the behaviours of the three abalone from each aquarium were averaged. The day-time (from 6:30 am to 6:30 pm) and night-time (from 6:30 pm to 6:30 am) were analysed separately, due to the abalone strong nycthemeral rhythm (Roussel et al., 2020). The model included the factors nutrition (fed or starved), stress procedure (mild or severe stress), day (day 1, 5 and 8) and an interaction between nutrition, stress and day as fixed effects. The aquarium number ($n = 48$) was added as random effect using a correlation structure class of autoregressive process of order 1 in the model.

When assumptions of residual normality and/or homoscedasticity were not verified in linear mixed-effect models, $\log(x+1)$ or inverse $(x+1)$ transformations were used before carrying out the analysis. Concerning the short-term tests, when assumptions of residual normality and/or homoscedasticity were not verified after the various transformations, a non-parametric Sheirer Ray Hare test was performed (Scheirer et al., 1976). For post-hoc analysis, a contrast method based on estimated marginal means was applied with a Bonferroni correction using the “emmeans” R package. Chi-squared or Fisher exact tests were used for the analysis of frequency data of survival in the mesocosms test. All data are presented as least square means (lsmean) \pm SE and mixed model analysis unless otherwise stated.

3. Results

3.1 Righting test

A trend for a stress effect was observed: severely stressed juveniles tended to take more time to right in comparison to mildly stressed ones ($H_{1,96} = 3.67$, $P = 0.056$). No significant effects of nutrition or interaction between nutrition and stress procedure were obtained for the time to right ($H_{1,96} = 1.23$, $P = 0.268$ and $H_{1,96} = 0.67$, $P = 0.412$, respectively) (Table 2).

3.2. Hiding test

The juveniles that experienced a severe stress took significantly more time before hiding ($H_{1,96} = 7.19$, $P = 0.007$) (Table 2). However, no effect of nutrition, stress procedure or interaction between both factors were observed for the time to make the first movement (respectively, $F_{1,96} < 0.01$, $P = 0.979$; $F_{1,96} = 0.34$, $P = 0.568$ and $F_{1,96} = 0.58$, $P = 0.456$) (Table 2).

3.3 Starfish test

A significant effect of the stress procedure was obtained on the three variables recorded during starfish test ($H_{1,75} = 5.40$, $P = 0.020$, $F_{1,75} = 8.94$, $P = 0.004$ and $F_{1,75} = 17.04$, $P < 0.001$ for the time spent moving, the time spent near the starfish and the distance from starfish, respectively, table 2). Individuals that experienced severe stress spent significantly less time moving, more time near the starfish and moved significantly less far from the starfish contact point (Table 2). A significant interaction between nutrition and stress procedure was obtained for the time spent near the starfish (Z1) ($F_{1,75} = 4.29$, $P = 0.042$, table 2): juveniles severely stressed and fed spent more time near the starfish compared to juveniles mildly stressed and fed. No effect of nutrition nor interaction between nutrition and stress procedure were reported for the variables recorded.

Tableau 2 : Behavioural responses during three short-term tests conducted on *Haliotis tuberculata* juveniles from four treatment (two degree of nutrition and stress). n = 100 in total for righting and hiding tests and n = 80 for starfish test, mixed model unless otherwise stated. Results are least square means \pm SEM.

Behaviour	Mild stress		Severe stress		SEM	Stress \times Nutrition effect		Nutrition effect		Stress effect	
	Fed	Starved	Fed	Starved		F/H	P	F/H	P	F/H	P
	Least square means										
Righting test											
Time to right (s) ^a	23.56	43.7	87.2	85.6	16.27	0.67	0.412	1.23	0.268	3.67	0.056
Hiding test											
Time before first movement (s) ^b	13.1	9.9	25.2	9.8	7.0	0.58	0.456	0.34	0.568	< 0.01	0.979
Time before hiding (s) ^a	245.4	215.6	287.3	256.4	15.2	0.17	0.677	3.39	0.066	7.19	0.007
Starfish test											
Time spent moving (s) ^a	158.1	137.0	115.4	110.5	10.6	3.32	0.07	0.85	0.356	5.40	0.020
Time spent near to the starfish contact area (s)	96.1	125.2	155.5	136.0	11.7	4.29	0.042	0.17	0.680	8.94	0.004
Distance from contact area (cm)	34.9	27.5	12.4	17.0	4.0	2.25	0.138	0.13	0.720	17.04	< 0.001

^a Scheirer Ray Hare test, ^b Inverse transformation.

3.4 Diurnal rhythm

No effect of stress or nutrition was observed on the time spent moving during the light period ($F_{1,44} = 1.52$, $P = 0.224$; $F_{1,44} = 0.38$, $P = 0.541$, respectively) (Table 3). However, a significant interaction between stress procedure and day was obtained ($F_{2,88} = 3.43$, $P = 0.037$) (Table 3). Hence, while mildly stressed abalone spent a similar percentage of time moving during light period over day 1, 5 and 8, severely stressed abalone showed the highest moving activity during the first day, with a stabilization of activity the 5th day ($F = 3.72$, $P < 0.001$ for 3.3 ± 0.6 % and 0.8 ± 0.2 % for day 1 and 5, respectively, mean \pm sd) (Figure 3). In addition, the

severely stressed and starved juveniles spent significantly less time moving over day 8 in comparison to day 1 (Figure 3).

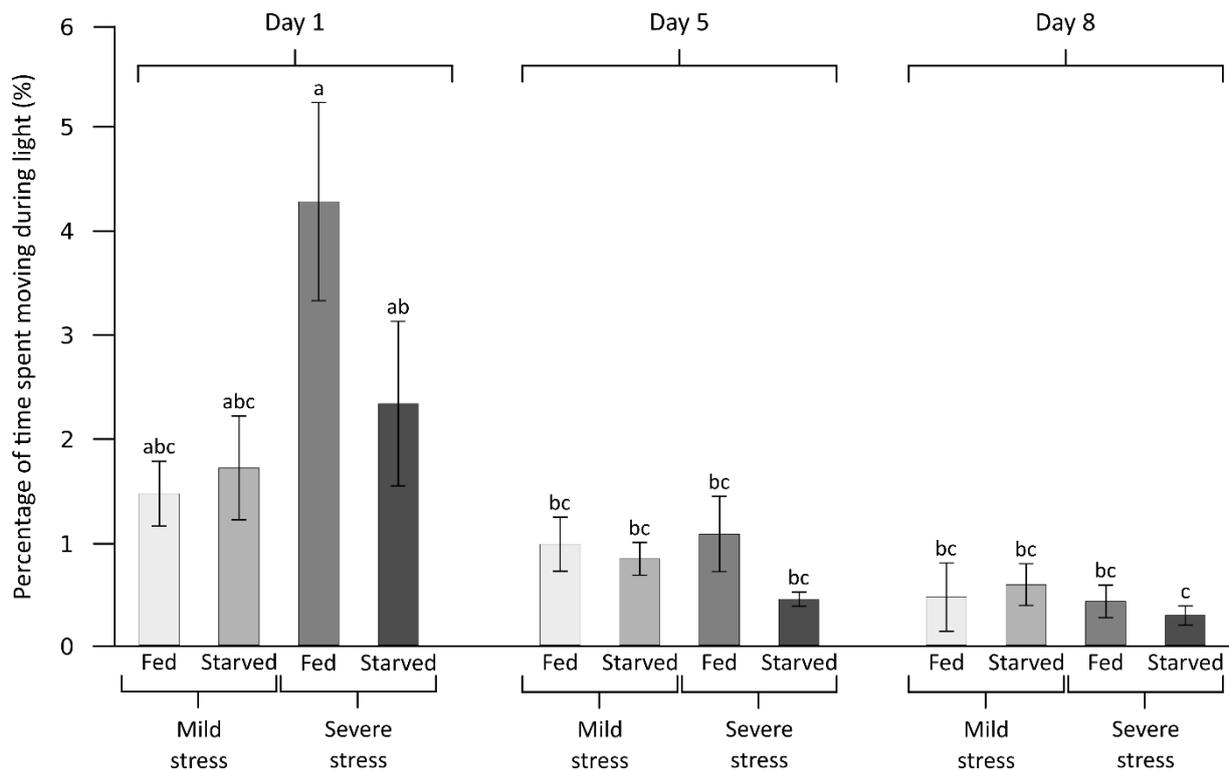


Figure 3 : Percentage of time spent moving during light period for *Haliotis tuberculata* juveniles during an 8-day period. The behaviours were recorded during days 1, 5 and 8. Juveniles were exposed to two nutrition degree (fed or starved) and stress procedure (mild or severe) before test start (n = 48 aquariums in total, three abalone per aquarium). Means and s.e are presented. Mixed model and contrast post-hoc with Bonferroni correction. Values that have different letters (a, b or c) are significantly different ($P < 0.05$).

For the time spent in algae zone, a significant effect of nutrition was obtained with starved individuals spending more time in this zone during all the experimental period compared to juveniles fed during the preparation period ($F_{1,44} = 7.92$, $p = 0.007$, Figure 4 A, Table 3). Furthermore, a significant day effect was obtained ($F_{1,84} = 75.25$, $P < 0.001$): juveniles spent less time in the algae zone over the first day compared to days 5-8 ($P < 0.001$, (Figure 4 A, table 3). Nevertheless, no significant effect of stress was obtained ($F_{1,44} = 0.74$, $P = 0.395$) (Table 3).

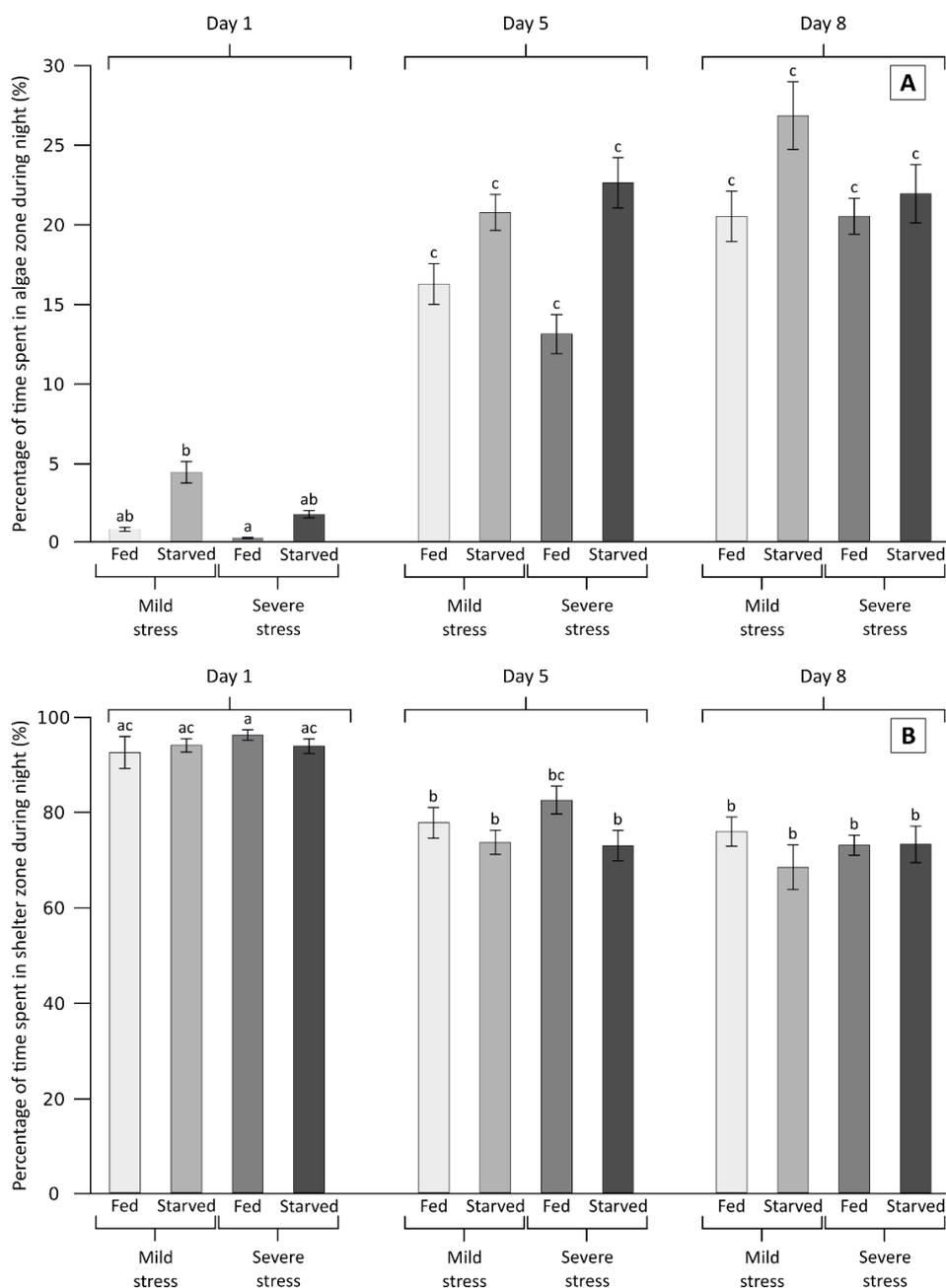


Figure 4 : Activity pattern of *Haliotis tuberculata* juveniles during an 8-day period. The behaviours were recorded during days 1, 5 and 8. Juveniles were exposed to two degree of nutrition (fed or starved) and stress procedure (mild or severe) before test start (n = 48 aquariums in total, three abalone per aquarium). (A) Percentage of time spent in algae zone during night period. (B) Percentage of time spent in shelter zone during night period. Means and s.e are presented. Mixed model and contrast post-hoc with Bonferroni correction. Values that have different letters (a, b or c) are significantly different (P < 0.05).

For the time spent in the shelter zone during night, a day effect was also found ($F_{2, 84} = 61.19$, $P < 0.001$), with a significant decrease between day 1 and day 5 ($P < 0.001$) (Figure 4 B, table 3). Thereafter, the time spent in shelter zone was stable between day 5 and 8 ($P = 0.138$) (Figure 4 B). No significant effects of nutrition and stress procedure were obtained ($F_{1, 44} = 3.02$, $P = 0.089$ and $F_{1, 44} = 0.48$, $P = 0.488$, respectively) (Table 3).

Tableau 3 : Statistical results for the diurnal rhythm test (n = 48 aquariums in total, full factorial model with n = 12 per treatment).

Factor	Time spent moving during light ^δ		Time spent in algae zone during night ^δ		Time spent in shelter zone during night	
	F	p	F	p	F	p
Nutrition (fed or starved)	1.52	0.224	7.92	0.007	3.02	0.089
Stress procedure (mild or severe)	0.38	0.541	0.74	0.395	0.48	0.488
Day (1, 5 and 8)	27.67	< 0.001	75.25	< 0.001	61.19	< 0.001
Nutrition × Stress procedure	2.81	0.101	0.02	0.877	0.02	0.894
Nutrition × Day	1.62	0.205	0.78	0.461	1.22	0.299
Stress procedure × Day	3.43	0.037	0.12	0.886	0.03	0.970
Nutrition × Stress procedure × Day	0.94	0.395	0.97	0.383	1.51	0.226

^δ Log transformation.

3.5. Survival in mesocosms

No significant effect of nutrition, stress procedure or interaction between both were observed for the survival rates in mesocosms ($X^2 = 0.03$, $P = 0.854$; $X^2 = 0.30$, $P = 0.582$ and $X^2 = 0.50$, $P = 0.920$, respectively). The crab presence had a significant effect on survival rates ($X^2 = 121.14$, $P < 0.001$), with 2 % mortality in absence of crabs while mortality reached 27 % in presence of predators after 10 days (Figure 5 A). In addition, the potential mortality was probably underestimated. Indeed, when considering mesocosms containing effective predators, the mortality rates were significantly higher when the two crabs were operational for predation at the end of the test in comparisons to mesocosms with one or two crabs that moulted during the 10 days period (Wilcoxon test, $P = 0.003$, 12 mesocosms with two efficient predator vs 12 with one or two predator that moulted, 35.4 ± 3.6 % and 18.7 ± 4.9 %, respectively, mean \pm sd) (Figure 5 B).

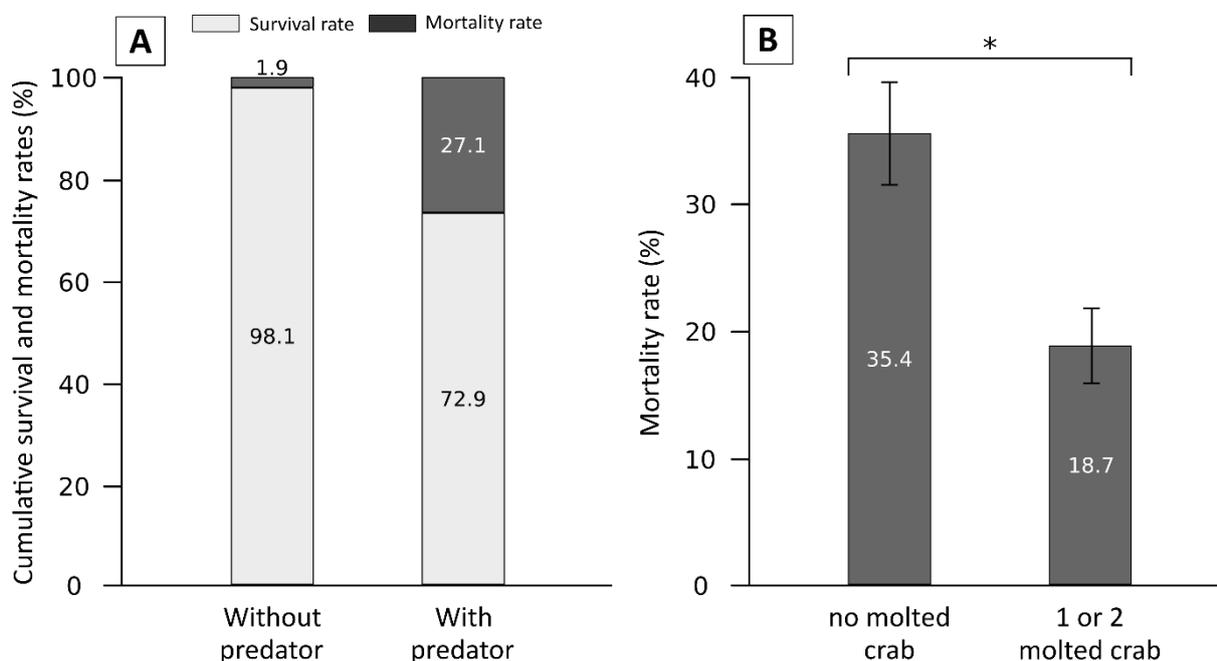


Figure 5 : Survival and mortality rates of *Haliotis tuberculata* juveniles in mesocosm test. (A) Cumulative survival and mortality rates (%), depending on the predator presence (n = 24 non-predation mesocosms and n = 24 predation mesocosms). (B) Mortality rates of juveniles (%) in mesocosms with predators in function of the number of operational crabs at the end of the test (n = 12 mesocosms with no molted crab and n = 12 with one or two crabs that molted). Each mesocosm contained 5 juveniles of each treatment (n = 20). Means and s.e are presented.

4. Discussion

Our study aimed to determine the effects of starvation, handling and transport on the post-seeding behaviour of young hatchery-reared *H. tuberculata*. The European abalone hides from predators by adopting nocturnal activity and cryptic behaviour during daytime (Clavier, 1987; Werner et al., 1995). It needs to adopt escape behaviours during a predator encounter (Bancalà, 2009; Roussel et al., 2019). The stress due to handling and transport, as well as the period without feeding preceding the seeding in the wild might modify these behaviours. The behavioural endpoints studied during this experiment are critical for the abalone survival over the first days. This study also analyzed the effects of predation on the abalone survival rates, as it is the main factor of mortality after seeding (Dixon et al., 2006; Griffiths and Gosselin, 2008; Hansen and Gosselin, 2013).

4.1. Short-term behavioural responses

The severe stress procedure experienced by juveniles had significant consequences on their short-term behavioural responses (i.e. 5 minutes) in different challenging situations in comparison to mildly stressed juveniles. Indeed, severely stressed juveniles took significantly

more time to hide and tended to take more time to self-right. In addition, after a contact with a *M. glacialis* arm, the severely stressed abalone spent significantly less time moving and remained closer to the predator contact point compared to the mildly stressed individuals.

We can hypothesise that the significant effects of severe stress procedure on the short-term behaviours may result from the exhaustion of abalone energetic reserves. When facing environmental stressors, organisms try to maintain homeostasis through several adaptive mechanisms at the molecular, biochemical, physiological and behavioural scales (Goldstein and Kopin, 2007). The stressors used in this study (i.e. manipulation, shaking and air exposure) are known to induce physiological stress in many abalone species. As example, after 15 min of mechanical disturbance on *H. tuberculata* individuals, Malham et al. (2003) measured noradrenaline and dopamine hemolymphatic levels reflecting physiological stress. In addition, in various abalone species the air exposure for several hours (from 6 to 16 h) lead to the use of glycogen and arginine phosphate reserves and then to the production of anaerobic glycolysis wastes in both foot and adductor muscle (i.e. tauroxine and D-lactate) (Gäde, 1988; Baldwin et al., 1992; Donovan et al., 1999; Morash and Alter, 2016). Behaviours are the integrative responses of an animal, at the interface between environmental stressors and physiological internal factors (Weis et al., 2001). Righting and high-speed locomotion (e.g. hiding and escape) requires anaerobic energy supplies from ATP production from glycogen stores of the foot and adductor muscle, due to the limited aerobic pathway of abalone (Gäde, 1988; Baldwin et al., 1992; Donovan et al., 1999; Hooper et al., 2011). Hence, their less effective execution for severely stressed juveniles in comparison to mildly stressed ones could be an indicator of exhaustion of abalone foot glycogen stores (Morash and Alter, 2016). Furthermore, the tendency of the severely stressed juveniles to take more time to turn in the righting test, an indirect measure of the energetic status, supports this hypothesis (Donovan et al., 1999; Roussel et al., 2019).

In contrast to the prementioned effects of the severe stress procedure, the starvation did not induce significant modification of short-term responses to challenging situations. These results are not surprising, as abalone are able to survive during several weeks without feeding (Durazo-Beltran et al., 2004; Viana et al., 2007). Indeed, a survival of up to 6 months without mortality have even been reported accidentally on farm for *H. tuberculata* (Huchette, comm. Pers). In addition, Carefoot et al. (1993) obtained no significant modifications of condition index after 27 days of starvation for *H. kamtschatkana* adults, and no significant

depletion of glycogen reserves in the abalone foot after 6 days of starvation. As the behaviours recorded required the use of glycogen stores (Gäde, 1988; Donovan et al., 1999), the absence of significant effect of starvation in the short-term responses likely shows that the 10 up to 15 days of starvation not depleted these stores in comparison to fed juveniles.

These results highlight the major effect of the seeding preparation procedure on short-term abalone behaviours. In their natural environment, the quick execution of these behaviours is critical for survival (Gade, 1988; Roussel et al., 2019). Indeed, during starfish contact, abalone exhibit stereotyped behaviours with a quick move away from the contact point (Bullock, 1953; Parson and Macmillan, 1979; Day et al., 1995). Moreover, following seeding, the abalone should be able to right and hide quickly to escape from the predators active during daytime, the period when seeding is done most of the time (Chauvaud et al., 2021). As the severe stress procedure induced less efficient behavioural responses, we can hypothesize that after seeding, the more stressed juveniles could experience higher mortality rates, notably if predators are already present on the site.

4.2. Diurnal rhythm

During the diurnal rhythm experiment, the juveniles spent significantly more time moving over light period during the first hours following the seeding in the aquariums, in comparison to the days 5 and 8, particularly for severely stressed individuals. In an experiment conducted on 28-33 months *H. midae* juveniles, Kaiser et al. (2017) tested the effects of stress caused by manipulation, shaking and air exposure on their diurnal rhythm for 6 days. They obtained an increase of abalone activity in large canvas tanks (4.0 × 1.8 m) within the first 2 nights, even for abalone with very mild stress (only turning over their feeder plate one time) and suggested that mobility is an indicator of stress. The mild stress procedure applied in our study was probably more stressful than those of Kaiser et al. (2017). Our results suggests that both stress levels are responsible of the higher locomotion obtained during light period of the first day in comparison to the fifth and eighth days, with an even higher locomotion for the severe stress, as demonstrated by the significant interaction effect obtained between time and stress. This higher mobility was mainly observed during light period, which might be the most detrimental in term of survival (Chauvaud et al., 2021).

During the first night post-seeding, the juveniles from all treatments spent significantly more time in shelter zone than during the 5th and the 8th night. Thereafter, they spent

significantly more time in algae zone, which explains the significant decrease in the time spent inside shelter zone. Numerous studies highlight that most of abalone species are nocturnal feeders (Shepherd, 1973; Clavier, 1987; Buss et al., 2015; Currie et al., 2016; Roussel et al., 2020). The time spent in algae during night was considered as feeding behaviour (Currie et al., 2016). A sharp increase in time spent in algae zone was reported in our experiment between day 1 and days 5-8. The diurnal rhythm was studied without a predator presence in the aquariums. A previous study on *H. tuberculata* juveniles of 16 months old showed that in presence of predator (the crab *N. puber*), the time spent in shelter zone was greater than in this study, due to the mortality of the individuals that spent long periods in exposed or algae zones (Chauvaud et al., 2021). Moreover, the experiment take place during late spring, that is a season where abalone are fully active (Donovan and Carefoot, 1997; Allen et al., 2006). This could explain the high proportion of time spent in algae zone for feeding.

In addition, starved juveniles spent significantly more time in algae zone than fed ones over day 1. A short period of starvation has been reported to drive changes in the duration of abalone feeding behaviour (Lloyd and Bates, 2008; Buss et al., 2015; Kaiser et al., 2017). As example, Buss et al. (2015) obtained greater movement and feeding behaviours that started during light period for 2-year-old hatchery-reared *H. laevigata* with restricted food diet compared to ad libitum diet. In our study, these differences are no longer visible on day 5.

4.3. Mesocosm mortalities

No significant differences in survival rates between the juveniles from the four treatments were obtained in the mesocosm test, independently of the test repetition. Very high survival rates were obtained in the mesocosms without predators, indicating that starvation and severe stress procedure did not adversely affect survival rates over a 10-day and 22-day period (for repetition 1 and 2, respectively). Considering the season (i.e. late spring) and the presumed high stress caused by severe stress procedure (handling, shaking and air exposure), we expected higher mortality rates inside the non-predation mesocosms. Indeed, Hansen and Gosselin (2013) highlighted that the stress of outplanting often trigger substantial mortality of abalone. As example, after a 7h transport duration, Schiel (1993) obtained mortality rates ranging from 1.5 to 47 % for hatchery-reared abalone (*H. iris*) of 10 mm shell length. In addition, the last seeding attempt performed on the European abalone resulted in high mortality rates (66 %) during handling and transport procedures (Clavier, 1987). On the other hand, after seeding of *H. kamtschatkana* individuals in the wild, Hansen

and Gosselin (2013) estimated that only 1-2 % of the abalone mortality was attributable to the stressful conditions experienced before seeding (i.e. handling, tagging and temperature variations). Hence, the severe stress procedure applied in this experiment was not enough stressful to induce substantial mortality. It is also possible that the juveniles have been unintentionally selected for their resistance to the manipulation inherent to rearing methods, including handling and air exposure, which could explain the low mortality rates obtained inside the mesocosms without predators (Malham et al., 2003). Concerning the nutrition, a short starvation period is insufficient to trigger mortality in juvenile or adult abalone, explaining the absence of significant mortality in starved juveniles (Roberts et al., 2001; Viana et al., 2007).

In contrast, the presence of *N. puber* resulted in substantial mortality rates on the juveniles from the four treatments. Indeed, considering the results obtained in mesocosms without predators, almost all mortality was attributable to the crabs. Along the Atlantic coasts, the crustaceans are major predator of molluscs (Silva et al., 2008). In addition, the velvet crab lives in the same depth range than *H. tuberculata* (Hunter and Naylor, 1993) and is able to crack shells with its chelae (Norman and Jones, 1992; Silva et al., 2010). Despite the double layer of stones disposed inside the mesocosms, some abalone may have failed to find an appropriate shelter regardless of treatment. Moreover, the moult of some crabs allows to highlight the effect of predator density on abalone mortality. Indeed, when neither crab had moulted, the abalone mortality rate was twice as high as in mesocosms with one or two moulted crabs. Considering these results, we can hypothesis that severe stress not induced behavioural modifications which led to higher vulnerability in comparison to the mild stressed juveniles. It is also possible that the high crab density (4 per square meter) and the absence of an alternative food source have induced stronger predation behaviour from crabs, which may have hidden potentials vulnerability differences between treatments. After the seeding of hatchery-reared abalone in the wild, the highest mortality occurs within the first-3 weeks (Hamasaki and Kitada, 2008). In this experiment, the mortality rate inside mesocosms with predators was relatively low in comparison to those generally reported after *in situ* seeding (De Waal et al., 2003; Hofmeister et al., 2018; Carson et al., 2019). As example, Goodsell et al. (2006) obtained mortality rates of 69 - 97 % few days after seeding of 8-month-old *H. rubra* juveniles. In addition, a meta-analysis of several stock enhancement programs conducted in

Mexico concluded that only 5 % of the seeded abalone are then incorporated to the commercial fishery (Searcy-Bernal et al., 2013).

The mesocosms allow to isolate the predator-induced mortality and to infer causal conclusions (Spicer, 2014). Hence, our findings suggest that crustaceans are a major threat to the success of stock enhancement programs, rather than short starvation or severe stress procedure before seeding.

4.4. Perspective for stock enhancement program

The short-term behaviours assessed herein highlight the effect of severe stress on important behavioural responses and on the abalone mobility during the first hours following seeding. Moreover, the starvation induced more exposition of abalone in the algae zone during the first night post-seeding. All these results suggested that severe stress and starvation would result in higher mortality rates in presence of predators. However, they not impacted significantly the mortality rates in mesocosms containing predators, which were close to 30 % for all treatments after 10 days. This result shows the complexity to extrapolate from behavioural outcomes to subsequent survival rates.

Even if no significant effect was obtained for survival rates in mesocosms, it is necessary to limit starvation and stress procedure before seeding. Indeed, natural environment is highly complex in comparison to mesocosms and many other environmental factors could increase the mortality rates of abalones. Moreover, our stress procedure was in line with the longest travel duration to join a seeding site in Brittany. As abalone are able to survive several hours to an air exposition in summer during low tide, our severe stress conditions were probably not sufficient to induce other deleterious changes than behavioural modifications. Therefore, as the possibility to perform stock enhancement programs on *H. tuberculata* in France is considered, the potential effects of transport and nutrition on the initial mortality rates should be carefully integrated, particularly if logistical problems extend the duration of air exposition. In addition, as demonstrated by the mesocosm experiment, the seeding site should contain few predators or provide sufficient hiding place for the abalone.

Acknowledgements

The authors thank the team of France Haliotis: Sylvain Huchette, Guillaume Colin, Maryvonne Leroux, Alexandre Berthelot and Xavier Lesage for the provision and care of the animals and assistance during the experiment. This experiment was conducted at the France Haliotis abalone farm. Animals and some parts of the setup were supplied by the farm. This work benefited from the support of the European Union (FEAMP) via the program 26 of the FEAMP 'innovation in fisheries' through the 'Ourmel' project.



Erwan AMICE © cnrs

CHAPITRE 3

Description de l'aire de répartition et caractérisation de l'habitat de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*)

L'objectif de ce chapitre est double : d'une part cartographier l'étendue de l'habitat de *H. tuberculata* et d'autre part d'en donner les principales caractéristiques physiques et biologiques. Ainsi, la première partie de ce chapitre est consacrée à la description de la distribution spatiale de l'habitat de l'ormeau européen à plusieurs échelles sur les côtes Manche-Atlantique françaises. La seconde partie de ce chapitre porte sur la caractérisation de cet habitat à micro échelle (mètre). Cette caractérisation a été réalisée à partir d'une campagne de collecte de données menée en plongée sous-marine. Dans la mesure où ces connaissances sont *a priori* inédites pour cette espèce, le cheminement ayant mené à l'élaboration du protocole appliqué a été détaillé. L'objectif de ce chapitre est de fournir les bases méthodologiques pour l'acquisition de données utiles à la sélection de sites appropriés à des programmes d'implantation.

Chapitre 3.1. Etude de la répartition de l'espèce *Haliotis tuberculata* sur les côtes Manche-Atlantique françaises à plusieurs échelles spatiales

1. Introduction

La mise en place de projets de repeuplement et/ou de soutien de stock nécessite l'acquisition d'informations suffisamment récentes sur la présence ou l'absence d'ormeaux, pour aider à la sélection des sites nécessitant une implantation. L'aire de répartition actuelle de la sous-espèce *H. tuberculata tuberculata* n'a, à notre connaissance, pas été actualisée sous forme de cartographies, bien qu'il soit admis qu'elle se limite à la façade atlantique des côtes françaises (Clavier, 1987). S'il y a bien des ormeaux en Méditerranée, ils appartiennent à la sous espèce *H. tuberculata lamellosa* et ne sont pas ciblés par cette étude. La dispersion larvaire de l'ormeau est limitée spatialement et temporellement par rapport à d'autres espèces de mollusques, et ne s'étend généralement que sur quelques kilomètres au maximum (Forster et al., 1982). En effet, la métamorphose intervient après une phase larvaire de 3 à 6 jours, ce qui est relativement court et limite les capacités de dispersion (Morgan et Shepherd, 2005). Dès lors, il est possible que les flux larvaires soient très irréguliers voire inexistants si les sites sont géographiquement isolés de plusieurs km les uns des autres (Shepherd et al.,

1992). L'analyse de la répartition de *H. tuberculata* pourrait permettre d'identifier des zones de rupture dans son habitat et ainsi justifier des analyses de comparaisons génétiques ou morphologiques entre sites distants et/ou isolés. En effet, si les flux de gènes entre des populations isolées sont épisodiques, ou qu'ils font intervenir peu d'individus, ces populations peuvent finir par diverger génétiquement (Miller et al., 2016).

L'objectif de cette première partie de chapitre est de situer les limites de la distribution de *H. tuberculata tuberculata* tout en mettant en évidence des discontinuités géographiques dans celle-ci. Un objectif secondaire est de mettre en relation la présence d'ormeaux à la nature du substrat. Ces informations ont été acquises au travers d'une large enquête menée auprès de pêcheurs professionnels, d'organismes institutionnels et d'associations naturalistes.

2. Matériel et méthodes

2.1. Acquisition des données

Toutes les personnes qui ont participé à l'enquête étaient volontaires et reconnues pour leurs connaissances de la répartition de l'ormeau le long des côtes françaises. Cette enquête a été systématiquement réalisée selon le même mode opératoire : le participant recevait des cartes de son secteur d'expertise et il cochant les carrés où il avait recensé de manière certaine et à plusieurs reprises la présence d'ormeaux. Aucune distinction entre les zones subtidales et intertidales n'a été faite au cours de cette enquête.

Ces cartes comprenaient un maillage composé de carrés de 1 km², qui partaient du trait de HISTOLITT du SHOM (Figure 1), c'est-à-dire à partir du haut de l'estran (zone de balancement des marées). En cas d'incertitude il était demandé de ne pas cocher les carrés concernés. L'ensemble des participants de cette enquête, ainsi que leurs zones d'expertise sont présentés dans le tableau 1. Au total, trois pêcheurs professionnels d'ormeaux et un ligneur professionnel ont participé à cette étude. Ils ont notamment apporté des informations sur la présence d'ormeaux dans les départements de l'Île et Vilaine, des Côtes d'Armor et du Finistère. En complément des informations fournies par cette enquête, des recherches

bibliographiques ont permis d'apporter des éléments de réponse pour certaines zones (Loire-Atlantique et Vendée notamment).

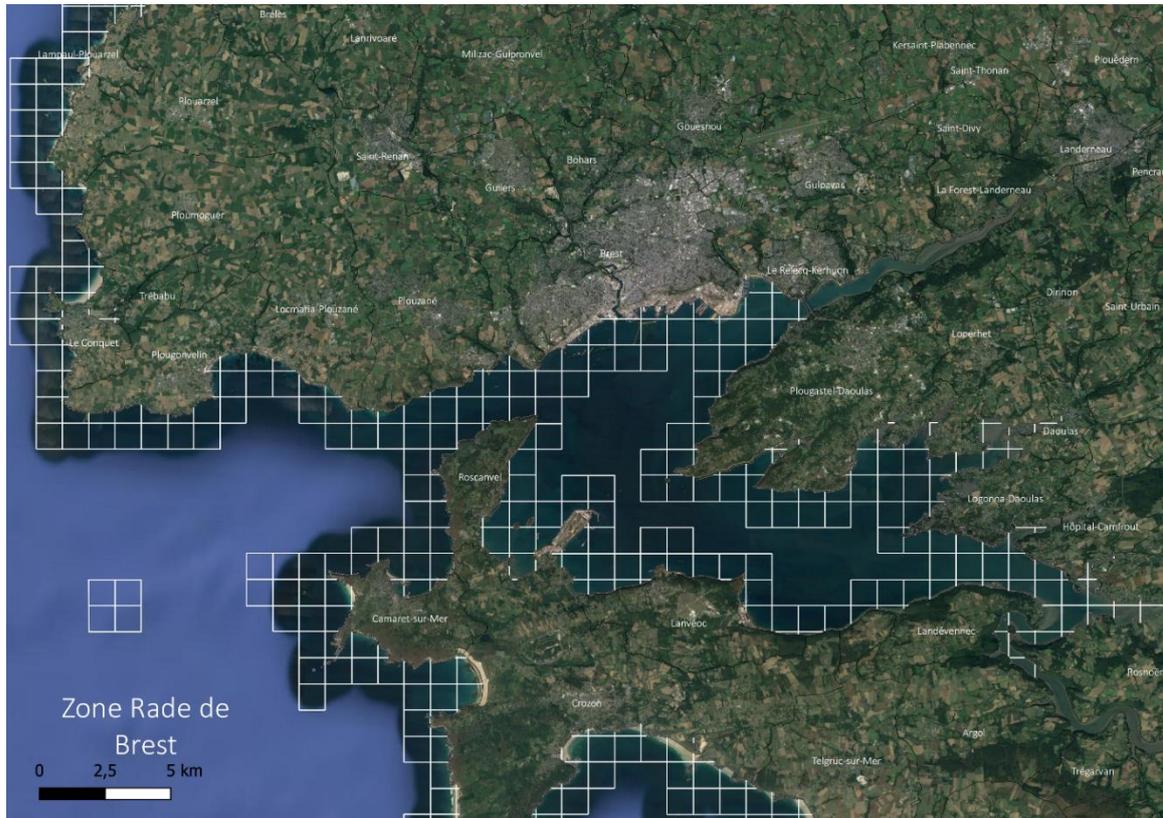


Figure 1 : Exemple d'un fond de carte fourni aux participants de l'enquête sur la présence ou l'absence d'ormeaux. Ici est représentée la rade de Brest avec un maillage de 1 km² partant du bord du trait de côte.

2.2. Réalisation de cartes à différentes échelles spatiales

Trois types de cartes ont été réalisées à des échelles spatiales allant d'un maillage de 100 km² à 0,01 km², avec le logiciel Qgis (version 3.20.3) (Tableau 2). La présentation de la répartition des ormeaux en fonction de trois échelles avait pour but : (i) de représenter l'aire de répartition de la sous-espèce *H. tuberculata tuberculata* à l'échelle nationale, (ii) de pouvoir identifier des zones de discontinuité étendues dans son habitat (par exemple zones sédimentaires d'importance, estuaires) à l'échelle de la région Bretagne et Normandie, et enfin (iii) d'être en mesure d'analyser sa répartition à une échelle très locale (c'est à dire trait de côte d'une commune).

Tableau 1 : Liste exhaustive des participants à l'enquête sur la présence de *H. tuberculata* sur les côtes françaises. Pour chaque participant est indiquée sa zone d'expertise, ainsi que le département / région concerné.

Identité	Métier/organisme	Zone d'expertise	Département / région
Jean Lepigouchet	Président (CPML 50)	De Coudeville sur Mer à Bricqueville sur Mer	Manche et Calvados
Olivier Basuyaux	Chercheur SMEL	Manche et zone de Saint-Brieuc	Normandie
Paul Chambers	Chercheur gouvernement de Jersey	Jersey	Jersey
Elizabeth Sweet	Chercheur centre de biologie de Guernesey	Guernesey	Guernesey
Philippe Orveillon	Pêcheur professionnel d'ormeaux	Ile et Vilaine	Ile et Vilaine
Françoise Calvez et Christian Aillet	Pêcheurs professionnels d'ormeaux	Zone de Saint-Quay-Portrieux	Côtes d'Armor
Florence Gully et Marc Cochu	Associations VivArmor et Estran 22	Côtes d'Armor	Côtes d'Armor
Ludovic Ogradovitz	Ligneur professionnel	Ensemble du Finistère	Finistère
Nathan Roullot	Ligneur et pêcheur professionnel d'ormeaux	Pointe de Penmarc'h et Glénans	Finistère
Martial Laurans	Chercheur Ifremer	Finistère + secteur Saint-Malo	Finistère
Jacques Grall	Chercheur Lemar (IUEM)	Finistère Nord / Morbihan + zoom secteurs Plouneour-trez, Plouguerneau, Camaret	Finistère et Morbihan
Pierre Chauvaud	Doctorat Lemar (IUEM)	Etel à Saint-Gildas de Rhuys	Morbihan
Pierre Guy Sauriau	Chercheur CNRS	Pertuis Charentais, îles de Ré et d'Oléron	Charente

Tableau 2 : Présentation des différentes zones cartographiées et du maillage utilisé

Zone représentée	Echelle de la carte	Maillage utilisé
Côte atlantique française	Nationale	100 km ²
Bretagne et Normandie	Régionale	36 km ²
Camaret / Plouguerneau / Plouneour-Trez	Locale	0,01 km ²

Répartition à l'échelle nationale

Une carte à grande échelle a été réalisée pour présenter la répartition actuelle de l'ormeau européen le long des côtes françaises. Le maillage de cette carte est composé de carrés de 10 km de côté (100 km²), dans lesquels la présence ou l'absence d'ormeaux était indiquée.

Répartition à une échelle régionale

La carte à moyenne échelle représentait la répartition de l'ormeau en Bretagne, en Normandie et sur les îles Anglo-Normandes, à travers un maillage de 6 km de côté (36 km²). De plus, une couche simplifiée du substrat a été ajoutée à cette carte. Le substrat dit « favorable » correspondait à des fonds rocheux (par exemple roche-mère, champs de blocs) et le substrat « défavorable » à des sédiments fins (allant du sable grossier à la vase). L'objectif de cette couche était d'examiner l'existence de liens entre la nature du substrat et la présence d'ormeaux.

Répartition à une échelle locale

Une représentation cartographique très précise de trois zones, situées dans le Finistère dans les communes de Camaret, Plouguerneau et Plouneour-Trez, a été réalisée à partir de données fournies par Jacques Grall (LEMAR). Ces cartes contenaient des carrés de 1 hectare (0,01 km²), avec une estimation de la densité en ormeaux associée à chacun d'entre eux (c'est-à-dire nulle, moyenne et forte). Ces estimations de densité ne sont pas absolues mais une densité « moyenne » correspondait à l'observation de quelques ormeaux en une marée de pêche à pied alors qu'une densité « forte » permettait d'en observer plusieurs dizaines. Les profondeurs de 0 et 10 m ont été indiquées et obtenues à partir du 0 de référence, qui correspond à la plus basse mer astronomique (PBMA) (SHOM, 2021).

3. Résultats

Carte à l'échelle nationale

La répartition de l'ormeau européen le long de la côte atlantique française est présentée dans la figure 2. Il apparaît que la sous espèce *H. tuberculata tuberculata* est présente exclusivement en Bretagne, en Normandie et sur les îles Anglo-Normandes. En effet,

cette carte montre que les limites nord et sud de son aire de répartition actuelle sont situées respectivement à Barfleur et au sud du Morbihan. L'échelle du maillage utilisé permet d'entrevoir plusieurs zones de rupture dans cette distribution, telles que les baies d'Audierne, de Douarnenez et du Mont-Saint-Michel.

Carte à l'échelle régionale

La répartition de l'ormeau à l'échelle de la Bretagne - Normandie est présentée dans la figure 3. Cette carte permet de visualiser des zones de rupture entre Audierne et Penmarch, ainsi qu'au niveau des baies de Douarnenez, de Saint-Brieuc et du Mont-Saint-Michel. La répartition des ormeaux est en revanche continue dans le Finistère Nord et dans la majorité des Côtes d'Armor. De plus, il existe une corrélation systématique entre la présence d'ormeaux et d'un substrat favorable de type roche.

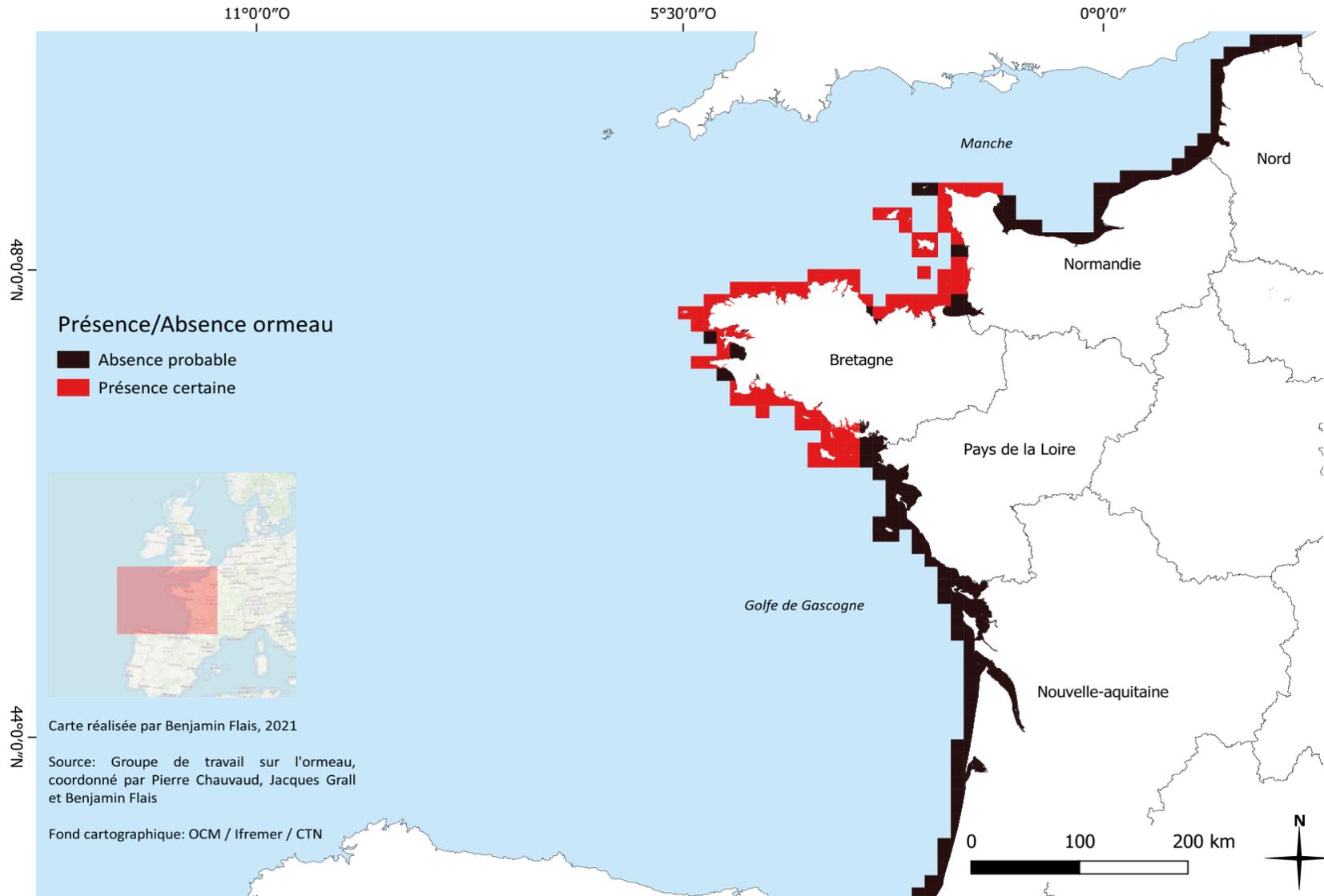


Figure 2 : Cartographie de la répartition de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*) le long de la côte atlantique française. Les carrés qui longent le trait de côte ont une superficie unitaire de 100 km².

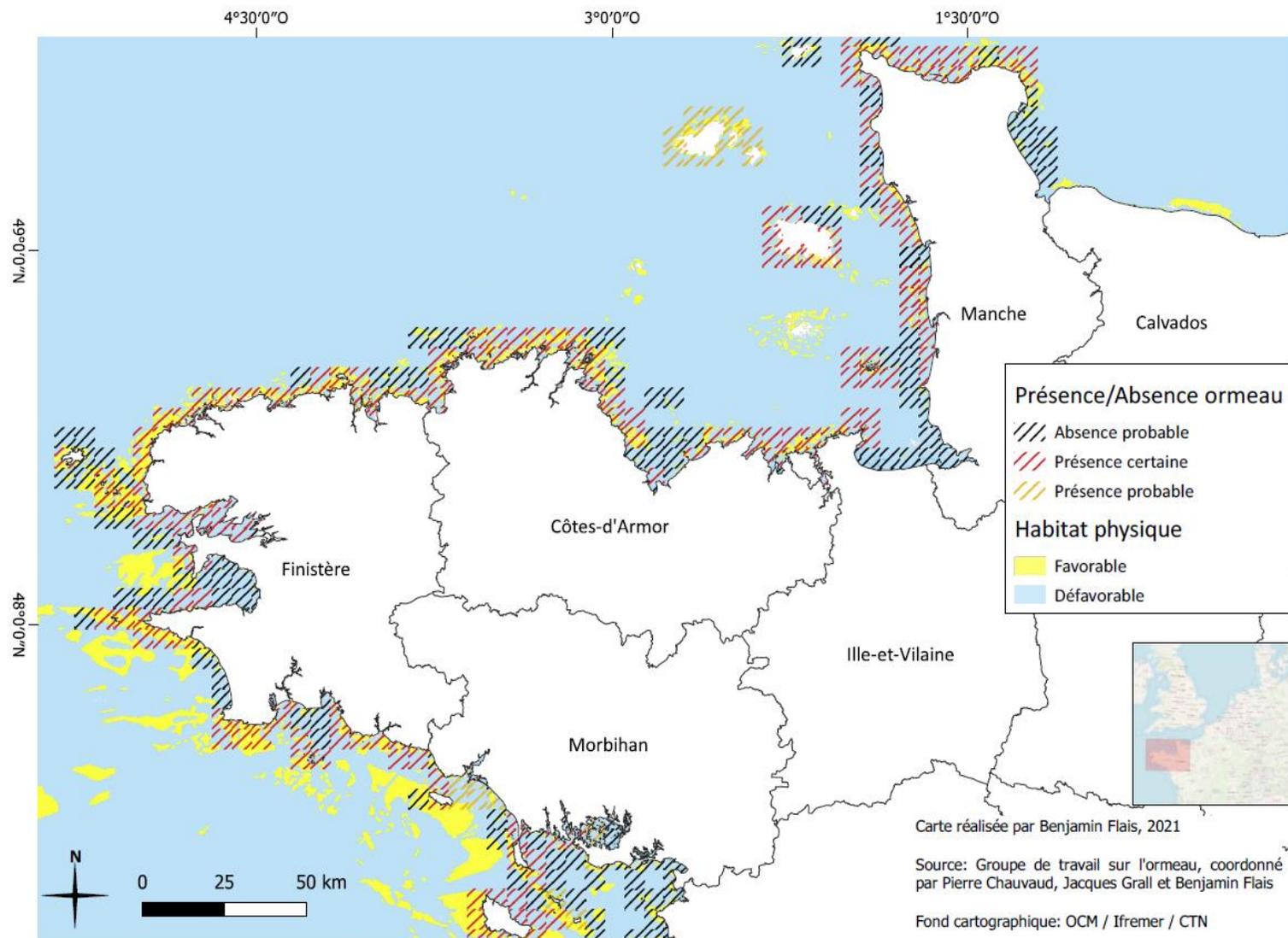


Figure 3 : Carte de la répartition de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*) le long des côtes de Bretagne et de Normandie, en lien avec la nature du sédiment (favorable : rocheux ; défavorable : sédiments fins). Les carrés qui constituent le maillage qui longe le trait de côte ont une superficie unitaire de 36 km².

Cartes à l'échelle locale

Les figures 4, 5 et 6 sont des cartes de présence de l'ormeau européen pour une partie du trait de côte de trois communes (Camaret, Plouguerneau et Plouneour-Trez). Au niveau du trait de côte de Camaret-Sur-Mer (Finistère, France), les ormeaux sont présents en forte densité sur les zones rocheuses situées principalement en dessous du niveau 0 (Figure 4). Les trois plages présentes sur cette zone n'abritent pas d'ormeaux et rendent cet habitat discontinu à cette échelle d'observation. De plus, il existe quelques zones rocheuses qui n'abritent pas d'ormeaux. Ces zones sont très exposées et battues par les vagues (Grall, communication personnelle, 2021).

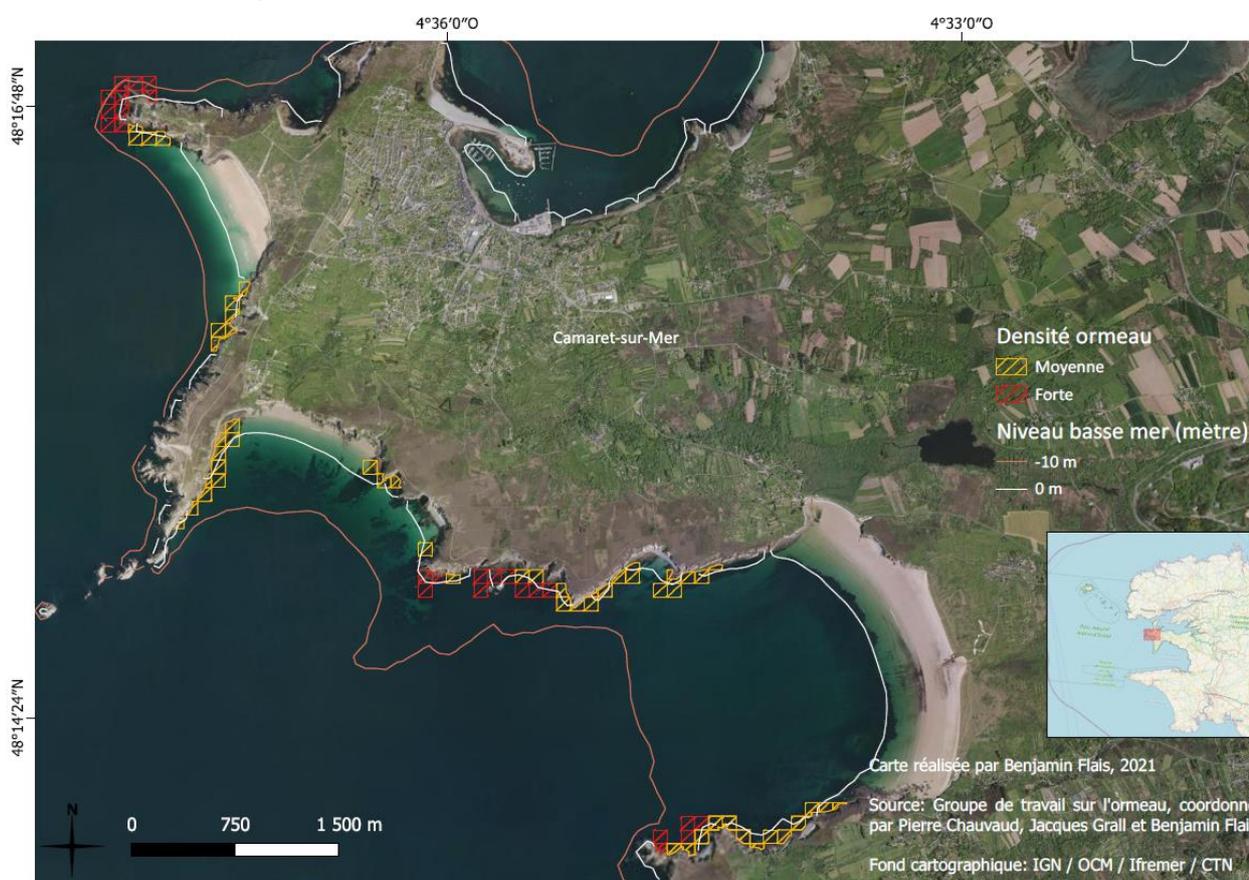


Figure 4 : Carte de la répartition et de la densité de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*) au niveau de la côte de Camaret-Sur-Mer (Finistère, France). Les carrés ont une superficie unitaire de 1 hectare (0,01 km²).

La figure 5, qui présente les alentours de l'île Stagadon à Plouguerneau (Finistère, France), permet de mettre en évidence des densités en ormeaux plus importantes dans la zone subtidale et plus faibles sur l'estran. De plus, sur la zone représentée, les discontinuités dans l'habitat sont moins étendues que celles observées dans la figure 4. Les informations obtenues ne concernaient que la zone comprise entre l'île Stagadon et les abords de l'île

Viège, l'absence d'informations dans le reste de la carte ne signifie pas que les ormeaux y soient absents.

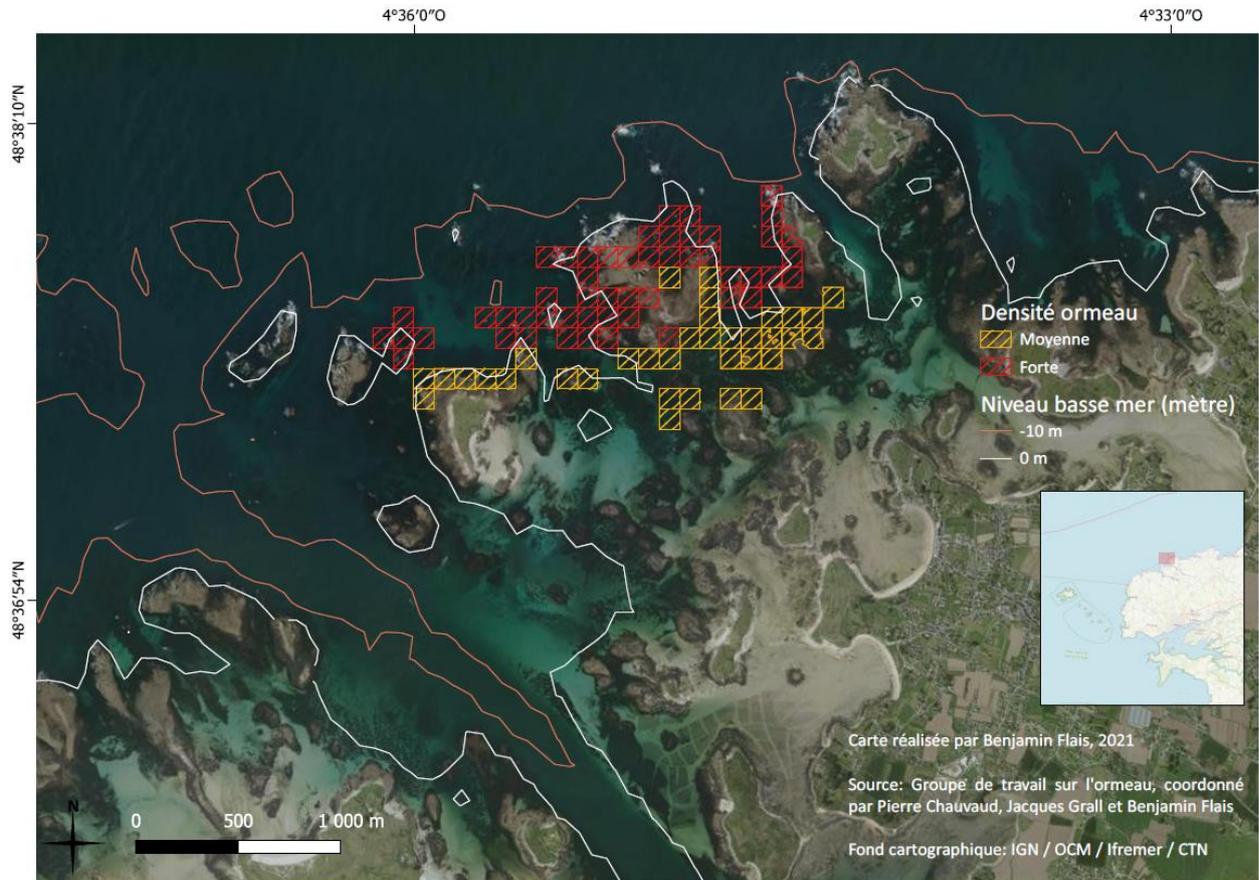


Figure 5 : Carte de la répartition et de la densité de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*) au niveau de la côte de Plouguerneau, à l'est de l'île Stagadon (Finistère, France). Les carrés ont une superficie unitaire de 1 hectare (0,01 km²).

La figure 6 présente la zone rocheuse située à l'ouest de la plage de Plouneour-Trez (Finistère, France). Comme à Plouguerneau, il ne semble pas y avoir de discontinuité marquée dans la zone identifiée. En outre, la même variation de densité en fonction de la zone subtidale et intertidale est observée. De la même manière que pour la figure 5, la zone située à gauche de derniers carrés n'a pas été répertoriée.



Figure 6 : Carte de la répartition et de la densité de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*) à l'ouest de la plage de Plouneour-Trez (Finistère, France). Les carrés ont une superficie unitaire de 1 hectare (0,01 km²).

4. Discussion

Répartition de Haliotis tuberculata sur la façade atlantique

La répartition de l'ormeau européen s'étend du nord du Maroc à la pointe Normande, en passant par les îles Canaries et les Açores (Geiger et Owen, 2012). La répartition des trois sous-espèces de *H. tuberculata* (*H. tuberculata tuberculata*, *coccinea* et *lamellosa*) n'est pas clairement définie et il est possible que des zones de chevauchement existent, notamment en termes de flux larvaires (Van Wormhoudt et al., 2009; Roussel et Van Wormhoudt, 2017). Néanmoins, Roussel et Van Wormhoudt (2017) estiment que les populations du nord de la France (c'est à dire au-dessus du Morbihan) sont relativement isolées de celles qui se trouvent plus au sud, au niveau des côtes du pays basque français et du littoral atlantique de l'Espagne. La phase larvaire planctonique de l'ormeau européen dure entre 3 et 6 jours. D'après Gruenthal et al. (2007), une larve intégrée aux courants marins peut atteindre une vitesse théorique de 0,3 – 0,4 m.s⁻¹, ce qui correspond à un déplacement maximal théorique de 150

– 200 km sur 6 jours (ce qui est très hypothétique). Or, l'enquête menée dans ce chapitre montre l'absence actuelle de populations pérennes d'ormeaux entre le Morbihan et les côtes du Pays Basque, ce qui représente une distance minimale de 400 km. De ce fait, il paraît peu probable que des échanges réguliers de larves aient lieu entre les populations de Bretagne – Normandie et celles du sud de la façade atlantique française et de l'Espagne (Roussel et Van Wormhoudt, 2017). Ainsi, seules les populations de la partie nord de la France ont été considérées comme appartenant uniquement à la sous-espèce *H. t. tuberculata*. (Van Wormhoudt et al., 2009).

Au cours de l'enquête, aucun témoignage et aucune référence bibliographique récente n'ont évoqué la présence d'ormeaux au sud de l'estuaire de la Loire, et au-delà de Barfleur, ce qui suggère un net recul de l'aire de répartition de *H. t. tuberculata* au nord comme au sud. En effet, Gaillard (1958) estimait que l'ormeau européen s'étendait jusqu'aux alentours du Cap Gris, à proximité de Calais, même si cette information est discutable car non confirmée par des observations directes. Au sud, Weulersse (1928) notifiât la présence d'ormeaux dans le bassin d'Arcachon, et Faideau (1921) a été le dernier à indiquer leur présence sur les côtes Charentaises, notamment au niveau du Pertuis d'Antioche (De Montaudouin et Sauriau, 2000). Au vu de la topographie de l'île d'Yeu, il est néanmoins possible qu'une population d'ormeaux y soit présente mais aucun écrit historique ou témoignage en faisant mention n'a été recueilli.

Ainsi, cette étude met en évidence une diminution probable de l'aire de répartition historique de *H. tuberculata*. Cette diminution pourrait être liée à des changements des conditions environnementales dans les zones où l'ormeau semble avoir disparu, sous la pression des pollutions d'origine terrestre et/ou en réponse aux changements climatiques, en particulier à la montée de la température des eaux de surface. Par exemple, le golfe de Gascogne a subi une augmentation de la température moyenne de ses eaux de 0,26 °C par décennie entre 1982 et 2014 (Erauskin-Extramiana et al., 2019). De plus, dans la zone du Pertuis d'Antioche les populations de macroalgues ont eu tendance à régresser ces dernières décennies, notamment les laminaires et les fucales (Sauriau, 2021, communication personnelle). Cette raréfaction de la nourriture pourrait également avoir joué un rôle dans la disparition des populations d'ormeaux dans ces zones.

La zone où les ormeaux subsistent actuellement avait déjà été décrite par Clavier (1987) comme celle qui abritait les densités en ormeaux les plus importantes. Il est à souligner que, malgré les épisodes de mortalités massives induits par la bactérie pathogène *Vibrio harveyi* depuis la fin des années 90, les populations historiques de Bretagne et de Normandie sont toujours présentes. La nature de l'enquête réalisée dans cette thèse n'offre toutefois pas d'informations quant à leurs dynamiques (Nicolas et al., 2002; Travers et al., 2009).

Répartition de Haliotis tuberculata à l'échelle de la Bretagne-Normandie

Les cartes à l'échelle régionale et locale montrent que la répartition de l'ormeau européen le long du littoral de Bretagne et de Normandie est discontinue. En effet, plusieurs zones de rupture de grande taille existent, notamment en baie de Douarnenez, de Saint-Brieuc et du Mont-Saint-Michel. La taille du maillage utilisé pour la carte (36 km² par carré) fait que l'absence d'ormeaux dans un carré représente *a minima* une discontinuité de son habitat de 6 km de trait de côte. Des discontinuités ont également été mises en évidence à l'échelle de l'hectare au travers de l'exemple de Camaret notamment. Ces discontinuités apportent des informations quant à l'existence de potentielles barrières naturelles aux flux de gènes entre les différents stocks d'ormeaux de Bretagne et de Normandie. Comme mentionné précédemment, la capacité de dispersion larvaire des ormeaux est limitée (Mgaya et Mercer, 1994; Bester-Van der Merwe et al., 2011), ce qui peut rendre les flux larvaires entre des sites espacés de plusieurs km très aléatoires et irréguliers (Shepherd et al., 1992). De plus, après sa métamorphose, la capacité de dispersion de *H. tuberculata* est très limitée puisque l'ormeau ne peut traverser de larges étendues de sédiments fins (c'est à dire supérieures à quelques dizaines de mètres) (Werner et al., 1995).

Pour estimer si des échanges larvaires sont possibles entre deux zones séparées par des sédiments fins, des études de modélisation des flux larvaires en fonction de la topographie du fond, des régimes de courants, des vents dominants, du comportement larvaire et de la température de l'eau pourraient être entreprises (Shepherd et al., 1992). Il serait également intéressant de comparer la diversité génétique des ormeaux sauvages de part et d'autre de ces zones. En effet, des marqueurs génétiques de type microsatellites ou SNP (Single Nucleotide Polymorphism) permettent de déterminer des indices de différenciation génétique, afin d'estimer s'il existe des flux de gènes réguliers entre des populations séparées géographiquement (Van Wormhoudt et al., 2009; Morvezen et al., 2016a; Miller et al., 2019).

Une précédente étude utilisant huit marqueurs microsattellites n'a pas mis en évidence de différenciation génétique lors de la comparaison d'ormeaux sauvages issus de 6 sites équitablement répartis en Bretagne et en Normandie, et qui couvrait la quasi-totalité de l'aire de répartition décrite dans la présente étude (Roussel et Van Wormhout, 2017). Afin d'affiner et d'éprouver ces observations, le chapitre quatre de ce manuscrit s'attachera à analyser la diversité génétique des populations bretonnes.

L'ormeau est inféodé aux substrats durs et rocheux, ce qui rend son habitat morcelé, du fait que les étendues rocheuses de Bretagne et de Normandie soient rarement continues sur plus de quelques centaines de mètres (Shepherd, 1973; Clavier et Chardy, 1989; Werner et al., 1995). A la lecture de la carte de Bretagne-Normandie, il apparaît que la présence d'ormeaux est fortement corrélée à la présence d'un substrat rocheux (Clavier, 1987; Basuyaux, 1995). Les ormeaux montrent une préférence exclusive pour les substrats durs, comprenant des failles, des grottes ou des blocs (Forster, 1962; Richard, 1988), qui leur permettent de se camoufler et de s'ancrer solidement à l'aide de leur pied (Mgaya et Mercer, 1994). Ainsi, même si l'habitat des ormeaux peut sembler continu sur plusieurs dizaines de kilomètres (Figure 3), cet environnement peut s'avérer en réalité extrêmement fragmenté, avec une multitude de zones rocheuses, séparées entre-elles par des étendues de sédiments fins (Clavier, 1987; Richard, 1988; Stierhoff et al., 2012).

A l'échelle de l'hectare, les trois cartographies mettent en évidence que la densité en ormeaux est supérieure en zone subtidale par rapport à la zone intertidale. Cela pourrait être attribué à une pression de pêche accrue en zone intertidale, comme l'ont souligné Huchette et Clavier (2004). Il est également possible que l'habitat soit moins favorable en zone intertidale qu'en zone subtidale (par exemple en termes de communautés algales, de prédation, de compétition ou d'exondation), bien que cela n'ait à ce jour pas été démontré pour l'ormeau européen. Néanmoins, les ormeaux sont adaptés au cycle des marées puisque 6h d'exondation dans un environnement humide (par exemple sous un bloc rocheux, dans une faille) ne dégradent pas leur métabolisme. De plus, des quantités importantes d'algues rouges et vertes consommables par les ormeaux (par exemple *Palmaria palmata*, *Ulva sp*) sont également susceptibles de se développer sur l'estran (Roussel et al., 2020). Enfin, comme certains prédateurs naturels de l'ormeaux sont eux-aussi ciblés par la pêche récréative (par exemple *Cancer pagurus*, *N. puber*), il est probable que leur impact sur les ormeaux intertidaux

soit moins conséquent qu'en zone subtidale. Dès lors, et en l'absence de données environnementales précises, la pêche récréative apparaît comme l'un des facteurs expliquant la raréfaction des ormeaux sur l'estran.

5. Conclusion et mise en perspective

Cette enquête permet de redéfinir les limites actuelles de l'aire de répartition de la sous-espèce *H. tuberculata tuberculata*. Il apparaît que celle-ci s'est réduite au cours des dernières décennies, notamment au sud, dans le bassin d'Arcachon et le Pertuis Charentais. Il existe 4 zones de rupture de plusieurs kilomètres dans l'habitat de l'ormeau en Bretagne et en Normandie. Ces zones sont susceptibles de limiter les flux larvaires et donc les échanges d'informations génétiques entre les stocks d'ormeaux situés de part et d'autre. En outre, lorsque l'habitat est analysé à l'échelle de l'hectare, de nombreuses discontinuités apparaissent alors qu'elles n'étaient pas visibles à plus grande échelle. Il est probable que ces zones de rupture, ainsi que les conditions environnementales locales (houle, courant de flot, de jusant) limitent les flux de gènes. De ce fait, l'habitat de *H. tuberculata* apparaît comme étant composé d'îlots sporadiques de substrats durs, séparés par des étendues de sédiments fins. Afin d'estimer si ces zones de ruptures limitent les flux de gènes et isolent certains stocks, des modèles de dispersion larvaire prenant en compte les paramètres hydrologiques locaux à petite échelle et des comparaisons de diversité génétiques pourraient être réalisés.

Chapitre 3.2. Caractérisation de l'habitat de *Haliotis tuberculata* en plongée sous-marine

La première partie de ce chapitre a mis en évidence que l'aire de répartition de *H. tuberculata* s'est réduite ces dernières décennies et que le substrat favorable à cette espèce est composé de substrats durs (rocheux), avec des concentrations en ormeaux plus élevées en zone subtidale. Néanmoins, l'enquête menée n'a pas permis de rendre compte du biotope de l'ormeau. Or, dans une optique de mise en place de programmes de repeuplement / soutien de stocks, il est nécessaire d'acquérir des connaissances quant aux caractéristiques de l'habitat qui peuvent impacter la survie et le développement des ormeaux implantés. C'est pourquoi la description à micro échelle (à l'échelle du mètre) des critères qui régissent la présence d'ormeaux doit être entreprise en amont de telles opérations (Won et al., 2007; Strain et Johnson, 2010). Seules quelques études ont décrit l'habitat de l'ormeau européen, sans pour autant l'avoir caractérisé de manière quantitative (Forster, 1962; Clavier, 1987; Richard, 1988; Peck et Culley, 1990; Mgaya et Mercer, 1994; Billy et Péronnet, 2003). Le but de cette partie est de mettre en évidence les facteurs ou synergies de facteurs qui caractérisent un habitat à l'ormeau, à partir d'observations de terrain menées sur trois sites finistériens contrastés dans leur exposition à la houle. Cette partie de chapitre sera organisée en une première partie descriptive expliquant la méthode d'élaboration du protocole, étant donné l'absence de protocole de caractérisation de l'habitat clairement établi pour l'ormeau européen. Une seconde partie caractérisera l'habitat de l'ormeau européen en plongée et ce pour analyser quels facteurs de l'environnement sont favorables à la survie des ormeaux.

Partie 1 : Mise en place d'un protocole de caractérisation de l'habitat de l'ormeau européen

1. Liste des critères décrits dans la littérature

Chaque espèce d'ormeau possède sa propre niche écologique (Won et al., 2007 ; Costello, 2009), qui définit sa position et son rôle dans l'écosystème, ainsi que les caractéristiques de l'habitat qui lui sont associées (Pocheville, 2010). De ce fait, la présence des ormeaux est inféodée à plusieurs facteurs environnementaux (par exemple les courants, la présence de prédateurs, de micro et macroalgues), dont l'intensité ou l'abondance

influencent la capacité d'accueil de l'environnement (De Freitas, 2005; Strain et Johnson, 2010). Dès lors, caractériser la niche écologique d'une espèce permet de fournir des informations qualitatives et quantitative quant aux besoins de celle-ci, ce qui est indispensable pour être en mesure de sélectionner des sites propices à des opérations d'implantation (Huchette et al., 2005). Divers facteurs de l'environnement ont été présentés dans la littérature pour décrire les niches écologiques des espèces du genre *Haliotis* (Tableau 1).

1.1. Liste des critères abiotiques

Température, salinité, oxygène dissous et turbidité

Ces variables environnementales sont peu utilisées dans la description de l'habitat des ormeaux, bien que des études de laboratoire permettent d'estimer les limites acceptables de ces variables pour chaque espèce (Morash et Alter, 2016). Par exemple, Gaty et Wilson (1986) ont observé que le taux de consommation d'oxygène augmentait lorsque la température de l'eau passait de 16 à 24 °C chez *H. tuberculata*, ce qui le rend plus sensible à d'autres variations environnementales. De plus, bien que les ormeaux soient adaptés à des variations dans l'oxygénation de l'eau, si une hypoxie est trop importante en intensité et/ou en durée, elle peut entraîner une forte dégradation de leur métabolisme (Morash et Alter, 2016). Enfin, la salinité est généralement stable dans le milieu de vie des ormeaux, bien que ceux-ci puissent résister à des dessalures modérées. Il est admis que la salinité optimale pour la plupart des espèces d'ormeaux est comprise entre 30 et 35. Afin d'extrapoler les connaissances acquises en laboratoire au milieu naturel, la pose de capteurs autonomes à l'interface eau-sédiment permet de recueillir les données environnementales propres à l'habitat des ormeaux.

Tableau 1 : Liste des critères environnementaux utilisés pour décrire l'habitat de l'ormeau. Les techniques de mesure, le matériel requis et la fréquence d'occurrence dans des publications scientifiques qui décrivent l'habitat de l'ormeau ont été détaillés.

	Facteur	Technique de mesure	Matériel utilisé	Fréquence d'utilisation	Références
Critères abiotiques	Température, Salinité, Oxygène dissous, Turbidité	Autonome	Sondes multiparamètres	*	Rogers-Bennet et al., 2011 (<i>H. kamtschatkana</i>) / Miller et al., 2019 (<i>H. rubra</i>)
	Profondeur	Autonome	Sonde de pression / ordinateur de plongée	***	Le Petit, 2009 (<i>H. tuberculata</i>) / Saunders et al., 2009 (<i>H. rubra</i>) / Aguirre et McNaught, 2012 (<i>H. iris</i>)
	Pente	Active, estimation généralement qualitative	Appréciation visuelle de l'observateur	*	Wallace, 1999 (<i>H. kamtschatkana</i>) / Lessard et Campbell, 2007 (<i>H. kamtschatkana</i>)
	Nature du fond	Active, estimation généralement qualitative	Appréciation visuelle de l'observateur	***	Carreon-Palau et al., 2003 (<i>H. fulgens</i> et <i>corrugata</i>) / Lessard et Campbell, 2007 (<i>H. kamtschatkana</i>)
	Taille des blocs rocheux, Largeur, Profondeur des failles	Active, avec quantification de la dimension des blocs	Mètre et appréciation visuelle de l'observateur	***	Shepherd, 1998 (<i>H. laevigata</i> et <i>scalaris</i>) / Lafferty et al., 2004 (<i>H. sorenseni</i>)
	Exposition aux courants marins	Autonome	Courantomètres / blocs de gypse	**	Clavier, 1987 (<i>H. tuberculata</i>) / Saunders et al., 2009 (<i>H. rubra</i>)
	Exposition à la houle	Autonome	Sondes de pression / modèles mathématiques / dynamomètre	***	Bell et Denny, 1994 / Lessard et Campbell, 2007 (<i>H. kamtschatkana</i>) / Miller et al., 2019 (<i>H. rubra</i>)
Critères biotiques	Densité et taille des ormeaux	Active, comptage et mesure des individus dans des surfaces délimitées	Quadrats / transects / outils de mesures	***	Clavier et Chardy, 1989 (<i>H. tuberculata</i>) / Tomascik et Holmes, 2003 (<i>H. kamtschatkana</i>) / McGarvey et al., 2008 (<i>H. rubra</i>)
	Diversité des macroalgues	Active, détermination des espèces en plongée ou à terre après échantillonnage	Quadrats / transects / Clés de détermination	***	Carreon-Palau et al., 2003 (<i>H. fulgens</i> et <i>corrugata</i>) / Serviere-Zaragoza et al., 2003 (<i>H. fulgens</i> , <i>corrugata</i> , <i>cracherodii</i> et <i>sorenseni</i>)
	Diversité de la macrofaune	Active, détermination des espèces en plongée ou à terre après échantillonnage	Quadrats / transects / Clés de détermination	**	Shepherd et Turner, 1985 (<i>H. laevigata</i> et <i>scalaris</i>) / Won et al., 2013 (<i>H. discus hannai</i>)
	Présence de prédateurs, compétiteurs	Active, estimation généralement visuelle à l'intérieur de surfaces délimitées	Quadrats / transects	**	Shepherd, 1998 (<i>H. laevigata</i> et <i>scalaris</i>) / Tomascik et Holmes, 2003 (<i>H. kamtschatkana</i>)
	Pourcentage de recouvrement du sédiment par algues/organismes	Active, estimation généralement visuelle à l'intérieur de surfaces délimitées	Quadrats / transects	***	Kangas et Shepherd, 1984 / Tomascik et Holmes, 2003 (<i>H. kamtschatkana</i>) / Saunders et al., 2009 (<i>H. rubra</i>)

Profondeur

La profondeur est systématiquement relevée et représentée par rapport au zéro hydrographique afin d'être comparable entre différents sites (De Waal, 2005; Aguirre et McNaught, 2012). Chaque espèce d'ormeau est inféodée à une gamme de profondeur, comme l'a par exemple démontré Shepherd (1973) lors de la description des niches écologiques de 5 espèces australiennes. Dès lors, pour comparer des sites entre eux, sélectionner des profondeurs identiques permet de simplifier les comparaisons (De Waal, 2005). En effet, à des profondeurs différentes, les communautés d'algues et de prédateurs sont susceptibles de différer, ce qui complexifie la comparaison entre plusieurs sites. Néanmoins, la majorité des travaux descriptifs des habitats à ormeaux n'intègrent pas la profondeur dans leurs analyses et se contentent de la mentionner (Davis et al., 1996; De Waal et al., 2012).

Pente

La pente, exprimée en degrés ($^{\circ}$), est estimée visuellement en plongée sous-marine (Wallace, 1999; De Freitas, 2005; Lessard et Campbell, 2007). Elle est rarement utilisée pour décrire l'habitat des ormeaux, car les expérimentateurs choisissent probablement des sites en pente douce, plus simples à analyser. Néanmoins, une forte pente ($> 40^{\circ}$) peut limiter l'arrivée de la lumière sur une partie du substrat et être responsable de concentrations algales moins importantes, ce qui réduit la quantité de nourriture disponible pour les ormeaux (Jones et al., 2000).

Nature du substrat

Des images satellitaires de type LIDAR permettent de décrire la nature du substrat à large échelle (Miller et al., 2016). A une échelle plus restreinte des vidéos issues de caméras déployées depuis un bateau permettent également de la reconstituer (Lafferty et al., 2004; Stierhoff et al., 2012). Néanmoins, le substrat rocheux ne peut être décrit avec précision qu'au travers de plongées scientifiques, menées à petite échelle (mètre) (Rogers-Bennett et al., 2011). La description du substrat est généralement divisée en 2 parties, l'une comprenant le substrat sous-jacent et l'autre les structures rocheuses situées au-dessus (Tableau 2) (Jones et al., 2000; De Freitas, 2005; Lessard et Campbell, 2007).

Tableau 2 : Présentation des catégories de substrats sous-jacents et de structures rocheuses utilisées pour décrire la nature du substrat en plongée sous-marine.

Substrat sous-jacent	Structures rocheuses
Roche-mère faillée ou non	Blocs rocheux reposant sur roche-mère
Galets	
Graviers	
Débris coquilliers grossiers	Blocs rocheux reposants sur sédiments meubles
Sable +/- grossier	
Vases	

Taille des blocs rocheux / largeur et profondeur des failles

Les blocs rocheux sont systématiquement analysés et classés en plusieurs catégories, synthétisées dans le tableau 3 (Davis et al., 1996; Strain et Johnson, 2010). Ce tableau rapporte en outre les différentes classes de sédiments fins sous-jacents telles que décrites dans la littérature. En revanche, les failles sont rarement décrites du fait de la difficulté de mesurer précisément leurs dimensions, que ce soit en hauteur ou en profondeur (Cochard, 1980; Clavier, 1987). Sur ce dernier point, le développement de méthodes de type photogrammétrie pourrait être envisagé, bien que cela n'ait encore jamais été utilisé.

Tableau 3 : Classification de la taille des différents composants du substrat. Les variations dans les limites de taille pour un même type de substrat proviennent de définitions différentes de celui-ci.

Type de substrat	Limites de taille (longueur maximale)	Références
Très gros blocs	> 2,5 m	Strain et Johnson, 2010
Gros blocs	1 - 2,5 m / > 1,02 m	Strain et Johnson, 2010 / Jones et al., 2000
Petits blocs	20 - 100 cm / 25,6 – 102,4 cm	Strain et Johnson, 2010 / Jones et al., 2000
Galets	10 - 20 cm / 6,4 – 25,6 cm	Strain et Johnson, 2010 / Jones et al., 2000
Petits galets et graviers	< 1 - 10 cm / 0,4 – 6,4 cm	Strain et Johnson, 2010 / Jones et al., 2000
Sable grossier et moyen	0,25 - 4 mm	Jones et al., 2000
Sable fin et vases	< 0,25 mm	Jones et al., 2000

À titre d'illustration, toutes choses égales par ailleurs, il est admis qu'un site comprenant uniquement des petits blocs (< 10 cm) aura une capacité d'accueil moindre qu'un site contenant des blocs de tailles variées (par exemple de 5 cm à 1 m) (McShane et Naylor, 1995; Serviere-Zaragoza et al., 2003). En outre, la complexité de l'habitat, estimée par le nombre de couches de blocs et leur taille, permet d'appréhender la surface rocheuse disponible pour les ormeaux qui s'y camouflent (Forster, 1962; Serviere-Zaragoza et al., 2003; Tomascik et Holmes, 2003).

Exposition aux courants

La force des courants est souvent citée pour son influence sur la présence d'ormeaux, mais elle est rarement quantifiée. Le tableau 4 synthétise les méthodes qui peuvent être mises en œuvre pour quantifier ces courants.

Tableau 4 : Présentation des méthodes de quantification de l'intensité des courants sur des sites à ormeaux.

Méthode de quantification	Positionnement	Principe	Références
Modèles hydrodynamiques	Satellites	Utilisation de données satellitaires pour reconstituer l'intensité des courants de surface	Meleder, 2007 / Miller et al., 2019
Blocs de gypse et/ou de calcaire	Interface eau/sédiment	La vitesse de dissolution dépend de l'intensité des courants. Plus les courants sont forts et plus la dissolution est rapide	Shepherd, 1973 / McShane et Naylor, 1995 / Saunders et al., 2009
Courantomètres	Interface eau/sédiment	Des capteurs externes enregistrent la force du courant à haute fréquence et sur de longues périodes	-

Plusieurs études pointent l'influence des courants, notamment de marées, dans la distribution de *H. tuberculata* (Mgaya et Mercer, 1994). Par exemple, Clavier et Chardy (1989) ont observé que les juvéniles de *H. tuberculata* se trouvaient préférentiellement dans des zones où les courants de flot et de jusant étaient faibles pendant la majorité du cycle de marée. De plus, Clavier (1987) a mis en évidence une migration directionnelle d'ormeaux européens de toutes tailles dans le sens opposé à celui des principaux courants présents sur un platier, et ce jusqu'à ce qu'ils rencontrent une zone sableuse les obligeant à changer de direction.

Exposition à la houle

Le degré d'exposition d'un site à la houle est défini par la fréquence de survenue d'épisodes de houle significatifs ainsi que par l'intensité maximale (hauteur des vagues) que la houle peut atteindre (Lessard et Campbell, 2007). Il est généralement estimé à partir d'observations visuelles ou de modèles mathématiques (Shepherd et Partington, 1995; Wells et al., 1998; Naylor et Mc Shane, 2001; Lessard et Campbell, 2007). Néanmoins, d'autres études utilisent la présence de certaines espèces d'algues et/ou d'organismes comme des marqueurs du degré d'exposition à la houle (Graham et al., 1997). Enfin, des sondes autonomes de pression permettent d'enregistrer des valeurs absolues d'exposition aux phénomènes de houle (Bell et Denny, 1994; Saunders et al., 2009). La fréquence et l'intensité maximale de la houle influencent la distribution des espèces du genre *Haliotis* (Wells et al., 1998). Par exemple, Mc Shane et Naylor (1995) stipulent que des intensités de houle trop importantes peuvent engendrer de la mortalité chez les post-larves de *H. iris*. De plus, Wells et al. (1998) ont observé que des individus de l'espèce *H. iris* exposés à une forte houle dépensent plus d'énergie pour assurer leur fixation que leurs congénères abrités, ce qui les rends plus vulnérables face à d'autres pressions de l'environnement.

1.2. Liste des critères biotiques

Densité et taille des ormeaux sauvages

L'estimation de la densité et de la taille des ormeaux sauvages est systématiquement réalisée. Dans un habitat peu perturbé par les activités humaines comme la pêche, la pollution ou des pathogènes, l'analyse de la densité et de la biomasse en ormeaux permet d'estimer la capacité d'accueil du milieu et donc dans quelle mesure les caractéristiques de l'habitat sont favorables. Pour estimer la densité en ormeaux, plusieurs protocoles sont utilisés et sont représentées schématiquement dans la figure 1 :

A) Exploration libre du substrat pendant une durée fixée à l'avance et mesure de tous les ormeaux rencontrés (Shepherd et Partington, 1995; Davis et al., 1996).

B) Exploration exhaustive à l'intérieur de quadrats standardisés (typiquement entre 0.5 et 2 m²) et disposés aléatoirement (Peck et Culley, 1990; Shepherd, 1998; Aguirre et

McNaught, 2013). La majorité des travaux de ce type analyse *a minima* 10 m² par site (Tomascik et Holmes, 2003).

C) Mise en place de quadrats le long de transects, selon une disposition aléatoire fixée en amont (Tomascik et Holmes, 2003; De Freitas, 2005; Le Petit, 2009). Cette technique est une variante de la technique 2) tout en permettant de gagner en efficacité.

D) Exploration le long de transects dont la position peut être aléatoire ou décidée en amont. Le suivi de la densité en ormeaux peut être réalisé d'un seul côté ou de part et d'autre du transect (McGarvey et al., 2008).

Les suivis le long de transect permettent de couvrir des surfaces importantes car, une fois celui-ci en place, il n'y a plus de temps de préparation requis, à l'inverse des quadrats qui doivent être déplacés (De Waal et al., 2012). McGarvey et al. (2008) estiment que des transects permettent d'observer tous les individus présents et ainsi d'estimer des densités absolues en ormeaux, ce que ne permettent pas les explorations libres. Cependant, Clavier (1987) estime que le comportement cryptique des ormeaux pendant tout ou partie de leur développement rend la découverte de tous les individus très improbable. En outre, Shepherd (1985) a observé des disparités importantes dans l'efficacité de recherche des plongeurs. Enfin, la topographie des sites et les conditions environnementales (houle, turbidité induite, courants...) peut rendre difficile l'exploration de plus de quelques m² par plongée (Forster, 1962). Ces éléments sont à considérer dans l'élaboration d'un protocole. Cependant, des suivis réalisés avec un protocole et un groupe de plongeurs standardisé permettent de comparer la densité et la taille d'ormeaux vivants sur des sites différents en minimisant les risques d'erreurs.

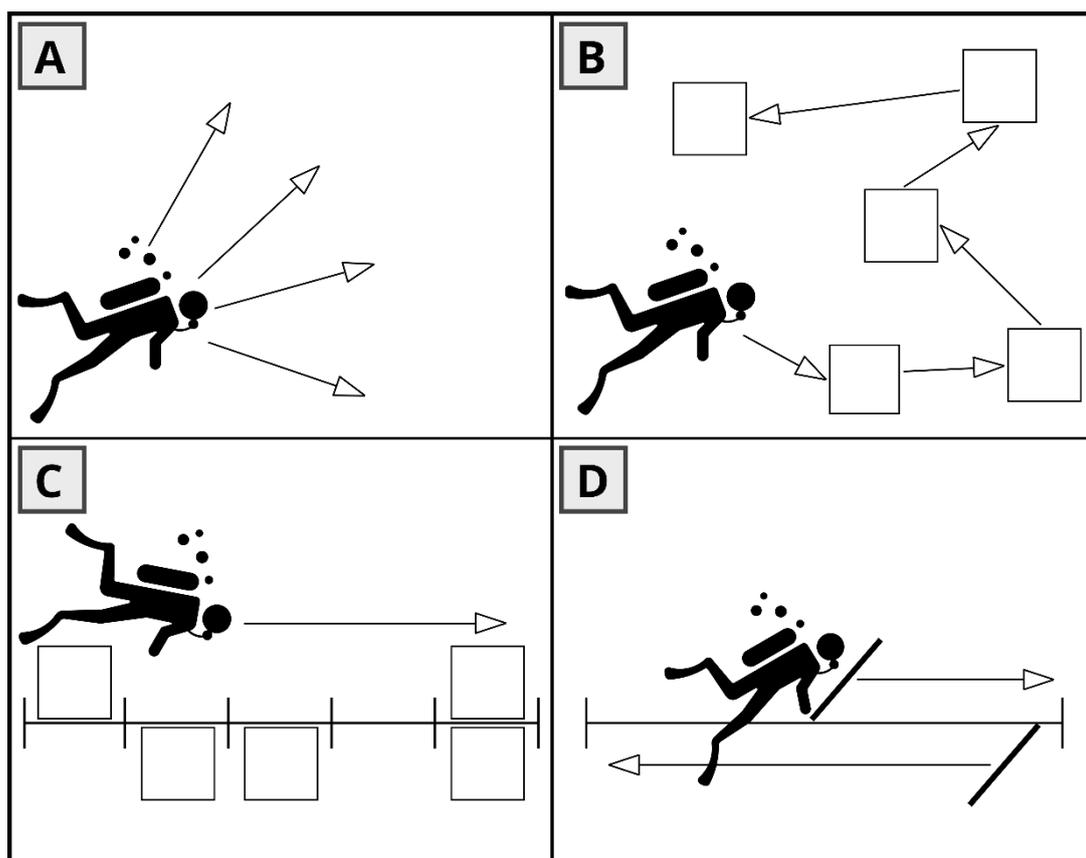


Figure 1 : Représentation schématique des quatre principaux protocoles utilisés pour estimer la densité en ormeaux dans le milieu naturel. A) Exploration libre du substrat. B) Mise en place de quadrats au hasard sur le fond. C) Répartition aléatoire de quadrats de part et d'autre d'un transect. D) Exploration de part et d'autre d'un transect sur une largeur définie.

Diversité des macroalgues

Les macroalgues structurent les fonds rocheux tempérés et peu profonds et sont communément utilisées pour définir des habitats côtiers (Lessard et Campbell, 2007; Burel, 2020). Les juvéniles de nombreuses espèces d'ormeaux dépendent de la présence d'algues de la famille des corallinacées encroûtantes. Ces algues calcaires et le biofilm qui s'y développe leur servent respectivement à se camoufler et à se nourrir (Clavier, 1987; De Freitas, 2005; Won et al., 2013). L'alimentation des ormeaux évolue au cours de l'ontogénie et se compose après quelques mois de macroalgues brunes, rouges et vertes (Carreon-Palau et al., 2003; Serviere-Zaragoza et al., 2003). Ainsi, la richesse spécifique en algues est régulièrement décrite dans des travaux de caractérisation de l'habitat des ormeaux (Carreon-Palau et al., 2003). Les identifications sont généralement réalisées à l'intérieur de quadrats, directement sous l'eau mais peuvent aussi avoir lieu en laboratoire après prélèvement des algues (Derrien-Courtel, 2008; Won et al., 2011).

Diversité de la macrofaune

L'analyse de la diversité de la faune est incluse dans de nombreuses études descriptives de l'habitat des ormeaux. Les taxons rencontrés appartiennent généralement à l'épifaune sessile ou vagile, l'endofaune n'étant pas prise en compte puisqu'elle n'entre pas en relation directe avec les ormeaux (Shepherd et Turner, 1985; Won et al., 2007). Ce type d'analyse permet de révéler la présence de prédateurs et de compétiteurs potentiels (Shepherd et Partington, 1995). La prédation est un facteur de surmortalité important lors d'opérations de repeuplement ou de soutien de stock (Strain et Johnson, 2010; Won et al., 2011). Dès lors, cela justifie d'acquérir des connaissances quant à la présence d'espèces susceptibles de se nourrir d'ormeaux et fréquentant les zones prospectées. Si la densité des espèces mobiles est difficile à évaluer (par exemple les poissons), il est possible d'estimer la densité d'espèces moins rapides ou sessiles (par exemple les spongiaires, les échinodermes, les crustacés ou encore les gastéropodes) (Jones et al., 2000; Won et al., 2013).

Recouvrement du sédiment par des algues ou des organismes sessiles

L'analyse du pourcentage de recouvrement du substrat par des algues ou des organismes sessiles est réalisée visuellement à l'intérieur de quadrats (Aguirre et McNaught, 2012). Le pourcentage de recouvrement peut être estimé par espèce, ou regrouper des groupes taxonomiques (par exemple les algues rouges, algues vertes, éponges).

Pour les macroalgues, plusieurs auteurs définissent des strates en fonction de la hauteur des algues et estiment le recouvrement de chacune d'elles (Tableau 5) (Strain et Johnson, 2010; Aguirre et McNaught, 2012). Alors que les algues sont situées sur la face supérieure des blocs rocheux, les organismes sessiles sont majoritairement localisés sous ces blocs (Shepherd et Turner, 1985). Dès lors, un protocole d'estimation du recouvrement des algues et des organismes sessiles doit dissocier les faces supérieures et inférieures des blocs rocheux. La précision des estimations visuelles de recouvrement varie selon les examinateurs. Avec de la pratique, elle est estimée comme étant correcte à +/- 5 % (Strain et Johnson, 2010).

Tableau 5 : Liste des strates d'algues décrites dans la littérature. Ces strates sont présentées dans un ordre décroissant de taille, allant des algues de la canopée haute, jusqu'aux espèces encroûtantes.

Strate	Description	Thalle	Groupe	Références
Canopée haute	Algues de grande taille (plusieurs mètres), dont les frondes forment des voutes	Dressé	Algues brunes	Lessard et Campbell, 2007
Etage supérieur	Algues dont les frondes se trouvent à plus de 15 cm du substrat (jusqu'à 2m).	Dressé	Algues brunes principalement	Kangas et Shepherd, 1984 / Aguirre et McNaught, 2012
Etage intermédiaire	Algues dont les frondes se trouvent à moins de 15 cm du substrat	Dressé	Algues brunes / vertes / rouges	Lessard et Campbell, 2007 / Aguirre et McNaught, 2012
Algues corallinacées dressées	Algues corallinacées avec un port dressé, ne dépassent pas quelques centimètres	Dressé	Algues rouges	Tomascik et Holmes, 2003 / Aguirre et McNaught, 2012
Algues corallinacées encroûtantes calcifiées	Algues rouges calcaires encroûtantes	Encroûtant	Algues rouges	Shepherd et Turner, 1985 / Tomascik et Holmes, 2003 / Lessard et Campbell, 2007
Algues brunes et rouges encroûtantes non calcifiées	Espèces encroûtantes non calcaires	Encroûtant	Algues brunes et rouges	Shepherd et Turner, 1985
Surface nue	Portion du substrat sur laquelle aucune algue ou organisme sessile ne s'est établi	-	-	Shepherd et Turner, 1985 / Tomascik et Holmes, 2003

1.3. Exemples de caractérisation de l'habitat des ormeaux

Plusieurs études qui ont analysé *in situ* des facteurs biotiques et abiotiques de l'environnement ont permis de dégager des caractéristiques des habitats à ormeaux, et des traits de la biologie des ormeaux, et ce pour plusieurs espèces à travers le monde. Une synthèse de ces résultats est présentée dans les tableaux 6 et 7 pour cinq espèces d'ormeaux. Ces deux tableaux montrent que des plongées descriptives permettent de caractériser des facteurs de l'environnement propices à la présence d'ormeaux.

Tableau 6 : Liste des connaissances acquises suite à des observations de terrain sur des facteurs abiotiques propices à la présence d'ormeaux. Cinq espèces de plusieurs pays sont présentées. Cette liste de facteurs abiotiques n'est pas exhaustive, elle décrit des facteurs régulièrement analysés.

		Facteurs abiotiques				
Espèce	Pays	Profondeur de vie	Intensité de courants et de la houle	Substrat préférentiel selon les stades de développement	Substrat de métamorphose	Références
<i>Haliotis iris</i>	Nouvelle-Zélande	De 1-2 m à plus de 15 m	Peut vivre sur des sites allant de protégés à exposés à la houle	< 67-75 mm (juvéniles) -> Champs de petits blocs relativement profonds / > 67-75 mm (adultes) -> Champs de plus gros blocs	Algues corallinacées encroûtantes ou substrats nus	McShane et Naylor, 1995 / Wells et al., 1998 / Naylor et McShane, 2001 / Aguirre et McNaught, 2011, 2012, 2013
<i>Haliotis laevigata</i>	Australie	De 3 à 30 m selon le milieu de vie	A besoin de courants modérés à forts pour capter des algues dérivantes / Houle peut être modérée à forte	< 10 mm -> Corallinacées / 10-50 mm -> Sous des blocs / 50-70 mm -> Dans des failles / > 70 mm (adultes) -> Exposés sur fonds durs	Algues corallinacées encroûtantes	Shepherd, 1973 / Shepherd et Turner, 1985 / Shepherd et Partington, 1995 / Shepherd, 1998 / McGarvey et al., 2008
<i>Haliotis rubra</i>	Australie	De 1-2 m à 10 m et parfois 25 m	Peu d'informations sur les courants. Supporte des sites allant de semi-abrités à semi-exposés à la houle	< 10 mm -> Corallinacées / 10 - 50 mm -> Sous des blocs / 50 - 100 mm -> Dans des failles étroites / > 100 mm (adultes) -> Grandes grottes ou parois verticales	Algues corallinacées encroûtantes	Shepherd, 1973 / Saunders et al., 2009 / Strain et Johnson, 2010
<i>Haliotis kamtschatkana</i>	USA et Canada	Du bas de l'estran à 20 m	Pas d'information sur les courants. Supporte des sites allant de faiblement exposés à exposés à la houle	< 10 mm -> Corallinacées / 10-70 mm -> Sous des blocs / > 70 mm (adultes) -> Exposés sur fonds durs	Algues corallinacées encroûtantes	Tomascik et Holmes, 2003 / De Freitas, 2005 / Lessard et Campbell, 2007 / Rogers-Bennet et al., 2011
<i>Haliotis discus hannai</i>	Japon	Au moins entre 2 et 10 m	Pas d'informations	< 5 mm -> Corallinacées exposé / 5-20 mm -> Corallinacées cryptique / 10-30 mm -> Sous des blocs / > 30 mm (adultes) -> Exposés sur fonds durs	Algues corallinacées encroûtantes	Won et al., 2011 / Won et al., 2013 / Takami et Kawamura, 2018

Tableau 7 : Liste des connaissances acquises suite à des observations de terrain sur des facteurs biotiques propices à la présence d'ormeaux. Cinq espèces de plusieurs pays sont présentées. Cette liste de facteurs biotiques n'est pas exhaustive, elle décrit des facteurs régulièrement analysés.

Facteurs biotiques							
Espèce	Pays	Longueur maximale	Algues consommées	Prédateurs observés	Densités décrites	Comportement	Références
<i>Haliotis iris</i>	Nouvelle-Zélande	> 200 mm	Algues rouges préférentiellement	Echinodermes : <i>Astrostele scabra</i> , <i>Coscinasterias calamaria</i> / Crustacés : <i>Plagusia chabrus</i> , <i>Hemigrapsus sexdentatus</i> / Mollusques : <i>Pinnoctopus cordiformis</i>	4.5 individus / m ²	Juveniles cryptiques / adultes cryptiques ou exposés	McShane et Naylor, 1995 / Wells et al., 1998 / Naylor et McShane, 2001 / Aguirre et McNaught, 2011, 2012, 2013
<i>Haliotis laevigata</i>	Australie	> 200 mm	Juvenile -> Diatomées benthiques / Adulte -> Algues dérivantes, 70% algues rouges, 15% algues brunes, 5-10 % de phanérogames, très peu d'algues vertes	Téléostéens : <i>Notolabrus tetricus</i> , <i>Pictilabrus laticlavius</i> , <i>Achoerodus gouldii</i> / Chondrichtiens : <i>Myliobatis australis</i> / Mollusques : <i>Octopus flindersi</i> , <i>Coscinasterias calamaria</i> , <i>Pleuroploca australasia</i>	Jusqu'à 4,9 adultes / m ²	Juveniles cryptiques / Adultes exposés. Espèce sédentaire	Shepherd, 1973 / Shepherd et Turner, 1985 / Shepherd et Partington, 1995 / Shepherd, 1998 / McGarvey et al., 2008
<i>Haliotis rubra</i>	Australie	Longueur maximale observée de 203 mm	Juvenile -> Diatomées benthiques / Adulte -> Algues dérivantes ou fixées, 80% algues rouges, 10 % algues brunes, 5-10 % de phanérogames, très peu d'algues vertes	Echinodermes : <i>Coscinasterias calamaria</i> / Téléostéens : <i>Notolabrus tetricus</i> , <i>Pictilabrus laticlavius</i> , <i>Parma victoriae</i> / Chondrichtiens : <i>Myliobatis australis</i> / Crustacés : <i>Plagusia chabrus</i> , <i>Ozius truncatus</i>	5 individus / m ²	Juveniles et adultes cryptiques. Non strictement sédentaire	Shepherd, 1973 / Saunders et al., 2009 / Strain et Johnson, 2010
<i>Haliotis kamtschatkana</i>	USA et Canada	Longueur maximale recensée à 146 mm	Juvenile -> Microalgues et diatomées benthiques / Adulte -> Algues rouges et brunes, dérivantes ou fixées	Echinodermes : <i>Pycnopodia halianthoides</i> / Téléostéens : <i>Anarrhichthys ocellatus</i> / Crustacés : <i>Cancer productus</i> / Mollusques : <i>Enteroctopus dofleini</i> / Mammifères : <i>Enhydra lutris</i> , <i>Neovison vison</i>	Jusqu'à 9,5 individus / m ² . Rarement 28 individus / m ²	Juveniles cryptiques / Adultes exposés	Tomascik et Holmes, 2003 / De Freitas, 2005 / Lessard et Campbell, 2007 / Rogers-Bennet et al., 2011
<i>Haliotis discus hannai</i>	Japon	Longueur maximale observée de 132 mm	Juvenile -> Diatomées benthiques / Adulte -> Algues rouges et brunes	Echinodermes : <i>Patiria pectinifera</i> , <i>Mesocentrotus nudus</i> / Crustacés : <i>Cancer amphioetus</i> , <i>Plagusia dentipes</i> / Mollusques : <i>Octopus vulgaris</i> , <i>Mitrella burchardi</i>	Pas d'informations	Juveniles cryptiques / Adultes exposés	Won et al., 2011 / Won et al., 2013 / Takami et Kawamura, 2018

1.4. Mise en place d'un protocole appliqué à l'habitat de *Haliotis tuberculata*

La caractérisation de l'habitat de l'ormeau européen en plongée sous-marine n'a, à ce jour, jamais fait l'objet d'une étude approfondie. Ainsi, le protocole qui a été appliqué dans cette thèse a été élaboré à partir des protocoles utilisés non seulement pour *H. tuberculata*, mais aussi pour d'autres espèces d'ormeaux dans le monde. Les critères biotiques et abiotiques retenus ont pour objectif de caractériser l'habitat propice plus spécifiquement aux juvéniles dans le premier protocole, et à tous les stades de développement pour le second protocole.

Présentation des protocoles proposés

Pour caractériser l'habitat de l'ormeau à l'échelle du mètre, des quadrats de 0,1 m² et de 0,5 m² ont été utilisés pour la partie habitat des juvéniles et de tous les stades de développement, respectivement. Le tableau 8 présente les facteurs de l'environnement retenus pour être analysés au sein de ces quadrats. Les algues ont été déterminées directement sous l'eau ou en laboratoire après prélèvement en cas de doute, notamment pour les algues rouges. En parallèle, les sites de Roscanvel et de l'Aber-Wrac'h ont été équipés avec des sondes autonomes de température (RBRsoloT, données encore non traitées).

Il était initialement prévu d'instrumenter tous les sites avec des sondes à oxygène et des sondes de pression. Néanmoins, faute de budget, ces deux types de sondes n'ont pu être acquises et déployées à temps. Les données acquises par ces sondes d'oxygène et de pression auraient pu être utilisées pour calibrer des données disponibles à plus large échelle, fournies par exemple par des observations directes (SOMLIT) ou des modèles de type mars 3D.

Tableau 8 : Listes des facteurs de l'environnement recueillis au sein des quadrats de 0,1 m² et de 0,5 m².

	Facteur analysé	Méthode utilisée	Protocole juvéniles (quadrat 0,1 m²)	Protocole tous stades développement (quadrat 0,5 m²)
Facteurs abiotiques	Taille des blocs rocheux	Mesure longueur et largeur	Oui	Oui
	Nombre de couches de blocs	Observation visuelle	Oui	Oui
	Granulométrie des sédiments fins	Analyse en laboratoire	Oui	Oui
	Profondeur	Lecture ordinateur de plongée	Oui	Oui
Facteurs biotiques	Densité et taille des ormeaux	Mesure longueur coquille et comptage	Oui	Oui
	Diversité algale	Observation visuelle et détermination en laboratoire	Oui	Non
	Diversité macrofaune	Observation visuelle	Oui	Oui
	Taille des prédateurs	Mesure	Oui	Oui
	Recouvrement algues encroûtantes	Estimation visuelle	Non	Oui
	Recouvrement algues dressées	Estimation visuelle	Oui	Non
	Recouvrement organismes sessiles	Estimation visuelle	Non	Oui

Phase de test des deux protocoles

Avant d'être définitivement validés, les deux protocoles ont été testés sur un site à ormeaux de type champ de blocs, situé sur la côte de Roscanvel (Rade de Brest, Finistère). Les quadrats de 0,1 et 0,5 m² ont été disposés le long de transects de 10 m déroulés dans le champ de blocs. La disposition des quadrats le long de ces transects était fixée aléatoirement en amont de chaque plongée. La figure 2 illustre les travaux menés sous l'eau pendant ces plongées, à savoir la mise en place des quadrats et les mesures réalisées.

Cinq plongées de test ont été réalisées en septembre 2020. Elles ont permis de valider l'utilisation de transect, de s'approprier les protocoles de manière à être le plus régulier possible dans les observations réalisées. Néanmoins, il est apparu que le protocole dédié aux juvéniles n'était pas optimal. En effet, la surface des quadrats utilisés (0,1 m²) était insuffisante par rapport à la taille des blocs présents sur place, qui faisaient régulièrement plus de 0,1 m². De plus, un nombre très réduit de juvéniles a été trouvé à l'intérieur de ces quadrats et ce,

malgré des recouvrements en algues encroûtantes de la famille des corallinacées importants. Ainsi, ce protocole a été abandonné dans le cadre de cette thèse, pour nous permettre de nous concentrer sur le second protocole, dont l'application s'est avérée concluante par rapport aux objectifs de fournir des informations pertinentes pour la sélection de sites appropriés à la survie de juvéniles issus d'éclosion dans le milieu naturel.

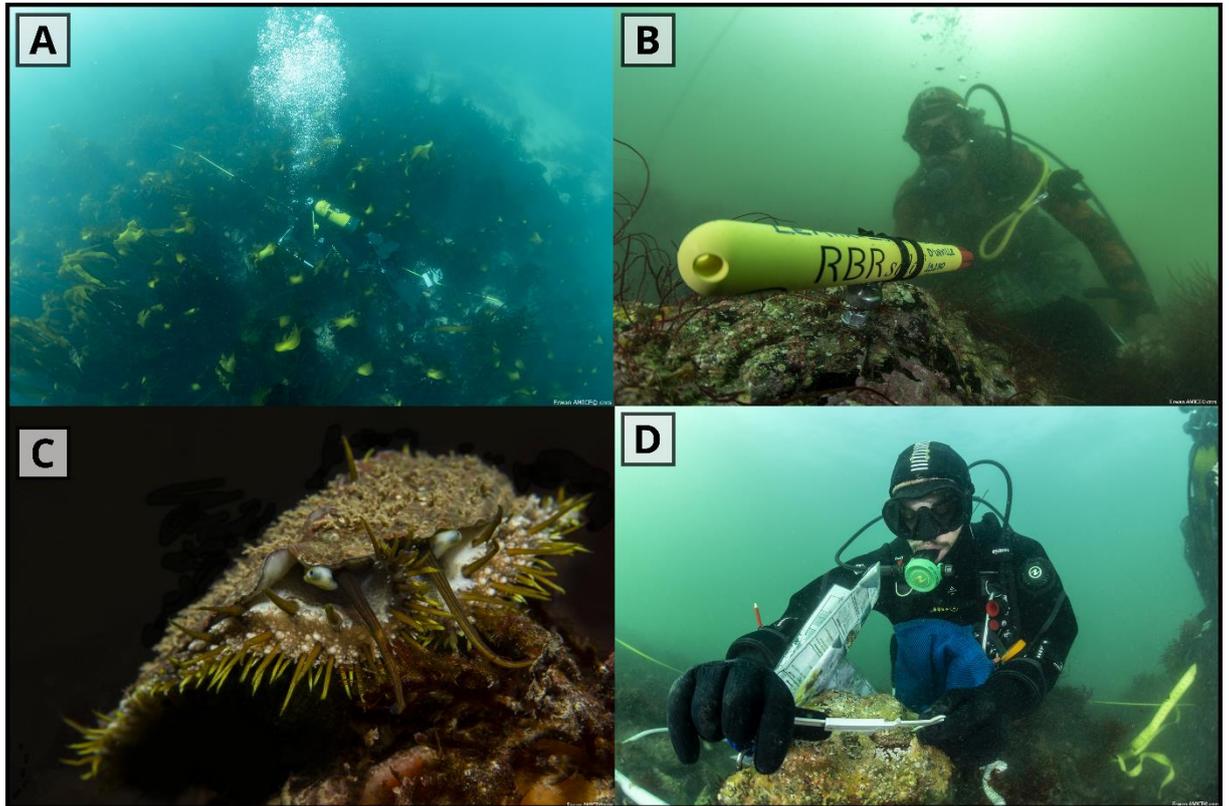


Figure 2 : Photographies illustratives. A) Mise en place d'un transect de 10 mètres sur le sédiment. B) Sonde de température RBR soloT. C) Ormeau dans son environnement. D) Mesure d'un ormeau à l'aide d'un pied à coulisse (©Erwan Amice).

Partie 2 : Caractérisation de l'habitat de l'ormeau européen

Caractérisation quantitative de l'habitat de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*) avec un objectif de repeuplement ou de soutien de stocks

European abalone (*Haliotis tuberculata*) quantitative habitat characterization with restocking or stock enhancement objectives

Chauvaud Pierre¹, Grall Jacques¹, Burel Thomas¹, Flais Benjamin¹, Roussel Sabine¹

Affiliation

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

Chapitre à soumettre courant 2023, après l'acquisition de données supplémentaires

Contexte et résumé de l'étude

Le protocole présenté précédemment a été appliqué à trois sites sélectionnés pour leur ouverture à la pleine mer. Il s'agissait par ordre croissant d'ouverture de Roscanvel (Rade de Brest), de l'Aber Wrac'h et de Molène (mer d'Iroise). Malheureusement, les conditions météorologiques n'ont pas été suffisamment clémentes pour se rendre plus de deux fois à Molène. De plus, aller à l'Aber Wrac'h nécessitait des moyens matériels conséquents, ce qui a réduit les possibilités de s'y rendre (seulement trois journées). Roscanvel était plus facilement accessible, et de ce fait le jeu de données final est déséquilibré. Néanmoins, nous avons choisi d'analyser toutes les données, sans toutefois réaliser de comparaisons inter-sites.

Les résultats montrent que la taille des blocs rocheux et leur agencement architectural ont un effet significatif sur les densités et les tailles des ormeaux qui s'y abritent. En revanche, les comparaisons de recouvrement algal n'ont pas permis de mettre en évidence d'effets significatifs sur les densités en ormeaux. Ces résultats soulignent l'importance des blocs dans la capacité d'un habitat à accueillir des ormeaux. Ceci devra être considéré lors de la sélection de sites d'implantation.

Abstract

Restocking or stock enhancement are promising strategies to restore collapsed natural populations or to preserve European abalone fisheries (*Haliotis tuberculata*). The success of such programs requires previous knowledges on the environmental factors essential to the survival and development of implanted juveniles. Among these factors, substrate composition and complexity are regularly pointed out as keystone on the capacity for the environment to sustain high abalone densities. Today, only few studies have quantitatively studied the *Haliotis tuberculata* habitat while only scattered information exists relative to the effects of various environmental factors on the abalone presence. The aim of the present work was to characterise the European abalone habitat, to provide information helping the selection of implantation site. We applied a diving protocol to three rocky sites located in western Brittany, and characterized by three different wave exposure.

A site effect was observed for the abalone density, with a higher density in Roscanvel. However, no difference in abalone shell length was reported between the three sites. In addition, results showed a positive effect of substrate complexity (i.e. one versus several layers of stones) on abalone density. The surface of the stones positively impacted abundance as well as shell length of the abalone. Percentage of algal cover had no effect on abalone density. These results suggest that the substrate composition and structure are the main factors to integrate in the selection of implantation sites. Nevertheless, several complementary studies will be needed to access the complete European abalone habitat characterisation, including predator abundance, juvenile habitat (below 20 mm shell length) characterisation as well as better environmental assessment through the set-up of environmental sensors (e.g. salinity, oxygen, waves and currents).

Keywords: European abalone, *Haliotis tuberculata*, habitat characterization, substrate complexity, stock enhancement

1. Introduction

The genus *Haliotis* comprises more than 50 species worldwide among which 20 present economic value for the professional fishing sector (Geiger and Owen, 2012; Zeeman et al., 2012). Over the last decades, most exploited species have sharply declined due to the combination of overfishing (Hamasaki and Kitada, 2008; Hansen and Gosselin, 2016), and

diseases (Travers, 2008; Corbeil et al., 2016). Worldwide, promising strategies are currently investigated that aim at restoring abalone populations in order to ensure fisheries sustainability, namely restocking and stock enhancement. Both programs release hatchery-reared juveniles in the wild (Lorenzen et al., 2012). Restocking objectives aim at restoring the spawning biomass of declined or collapsed populations to achieve regular and substantial yields (Bell et al., 2008). Stock enhancement purpose is to increase the natural juvenile supply in order to optimize the harvests ensuring sufficient recruitment events (Bell et al., 2008). Several abalone species are well adapted to such programs since their complete development cycle are mastered in aquaculture nurseries and numerous juveniles can be produced (Searcy-Bernal et al., 2013; Hamasaki and Kitada, 2008).

Abalone restocking or stock enhancement success depends upon various biotic and abiotic factors, which are critical for the post-seeding survival. Many programs recorded tremendous mortality rates (50-100 %) among the hatchery-reared juveniles compared to wild counterpart of the same age and habitat (De Waal, 2005; Roberts et al., 2007; Hansen and Gosselin, 2013; Carson et al., 2019), with an average of 12.5% recapture rate worldwide (Kitada, 2018). Hatchery-reared juvenile survival is mainly controlled by abalone condition (e.g. age, shell length, density, behaviour, stress) (De Waal et al., 2003; Goodsell et al., 2006; Buss et al., 2015) as well as by seeding site characteristics (e.g. microhabitat structure, predator presence, algae composition and density, waves and currents influence) (DeFreitas, 2005; Hart et al., 2013b). Hence, rebuilding efforts should be conducted on sites with suitable environmental conditions that will maximize survival and growth for implanted abalone (Huchette et al., 2005; Lessard and Campbell, 2007).

The European abalone (*Haliotis tuberculata*) is the single abalone species present in Europe and is distributed from the Normandy coasts of France to the coasts of northern Morocco, as well as in the Mediterranean Sea, the Canaries and Azores islands (Clavier, 1987, Van Wormhoudt et al., 2009). This species inhabits shallow coastal waters and is subject to both natural and anthropogenic pressures. Firstly, over recent decades, *H. tuberculata* populations have suffered from summer infections by the pathogenic bacteria *Vibrio harveyi*, that becomes virulent over 17 °C sea surface temperature (Nicolas et al., 2002; Travers et al., 2009). This gastropod species is also a target for both professional and recreational fishing. Despite the natural rebuilding of most stocks, such pressures have led to the collapse of several *H. tuberculata* populations in the Channel Islands and Normandy coasts (France), and

these populations are still low (Huchette and Clavier, 2004). To restore collapsed populations and preserve the sustainability of fisheries activities, restocking and stock enhancement of hatchery-reared juveniles of *H. tuberculata* are promising strategies.

The habitat of *H. tuberculata*, that is defined by the physical and biological environment in which it lives, has been described in a limited number of field studies (Le Hir and Hilly, 2005; Costello, 2009). This species occurs on a wide range of habitats, from the foreshore to 15 m depth, inhabiting rocky substrate, caves or stones, from sheltered to exposed coastlines (Forster, 1962; Clavier, 1987). Because *H. tuberculata* mainly feeds overnight on attached algae (Stierhoff et al., 2012), it colonizes substrates where a high diversity in macroalgae is observed (e.g. crustose coralline, brown, red and green algae of the canopy) (Clavier, 1987; Mgaya and Mercer, 1994). However, these studies mostly remained descriptive and quantitative measurements of environmental factors controlling abalone abundance at microhabitat scale (i.e. metre) at different life stages were not assessed. Pioneer habitat studies from other species such as *H. rubra* in Australia (Shepherd, 1973; Strain and Johnson, 2010), *H. kamtschatkana* in Canada and USA (Lessard and Campbell, 2007; Rogers-Bennet et al., 2011) or *H. iris* in New-Zealand (Naylor and McShane, 2001; Aguirre and McNaught, 2013) have shown that the survey of several additional factors is necessary to obtain satisfactory abalone habitat characterization. The main factors reported were: macroalgae species richness (Wood, 1993; Serviere-Zaragoza et al., 2003), substrate composition (i.e. size of stones), number of stone layers (Lafferty et al., 2004), interaction with potential predators and competitors (Shepherd, 1998), hydrodynamics (Saunders et al., 2009). All this information is therefore required when trying to better understand population density and morphometric features in *H. tuberculata*.

In this context, the aim of this study was to develop and apply protocol that would allow accurate assessment of the essential environmental factors that control European abalone survival and growth in the field. The effect of such environmental factors was evaluated over the abalone density and shell length. Such knowledge will support forthcoming selection of appropriate sites for restocking and stock enhancement programs (Wood, 1993; Huchette et al., 2005). The protocol was applied at three contrasted rocky sites localised in Brittany (France), from open sea to sheltered area where wild abalone populations have been identified.

2. Material and methods

2.1. Localization and selection of the study sites

The study was conducted on three rocky sites, located in the department of Finistère (Brittany, France) (Figure 1). These sites had a similar depth and were known to house wild European abalone. They were selected for their contrasted wave exposure. Roscanvel was the most sheltered site, situated inside the Bay of Brest. The Aber Wrac'h site was more exposed to the waves although remaining relatively sheltered at the entrance of the Aber Wrac'h. Finally, the most exposed site was located next to Molène Island, in the Iroise sea (Figure 1).



Figure 1: Map of the study sites selected for the characterization of *Haliotis tuberculata* habitat. All sites were located in the west coast of the Finistère department (France).

2.2. Sampling protocol

The study was conducted over a 6-month period, from September 2020 to March 2021. Sampling was performed by scuba-diving with a total of 24 dives allowing direct description of the biological and physical characteristics of the habitat. Because of harsh weather conditions during the scheduled sampling period coupled with logistical limitation, the Roscanvel, Aber-Wrac'h and Molène sites were visited 14, 5 and 5 times, respectively.

Sampling was conducted inside 0.5 m² quadrats that were deployed along 10 m long transects. The quadrat positions were randomly defined before each dive and taken on the

right or on the left of the transect, in order to ensure sampling independent representativeness. Once rocky areas with soft slope were identified, transects were set up randomly on the bottom (Figure 2A). Individual quadrat sampling procedure is summarized in figure 2B. First as abiotic factor, substrate structure was described through the measurements of the longest length and width of stones, or stone diameter when circular (to the nearest cm), which allowed for calculation of the lower stone surface. Habitat complexity was assessed through the numbering of stone layers. Only stones that were not partially buried into the sediment were measured, in order to ensure for their potential as abalone shelters.

Quantitative data on abalone and algae composition were collected as biotic factors. The abalone abundance and size (shell length to the nearest mm) were recorded for each site. The abalone were measured on the blocks when possible and they were linked to the dimensions of the block which sheltered them (length and width or diameter). The algal composition comprised the identification of all the brown, red and green algae species. For accurate identification, several individuals of unknown algae taxa were collected for further identification in laboratory to the nearest taxonomic degree, with the help of IUEM experts. Then, the percentage cover of the 0.5 m² quadrat of each algae species was visually assessed with +/- 5 % error following the method of Strain and Johnson (2010). To ensure for consistency over the whole set of measurements, all observations were performed by a single diver.

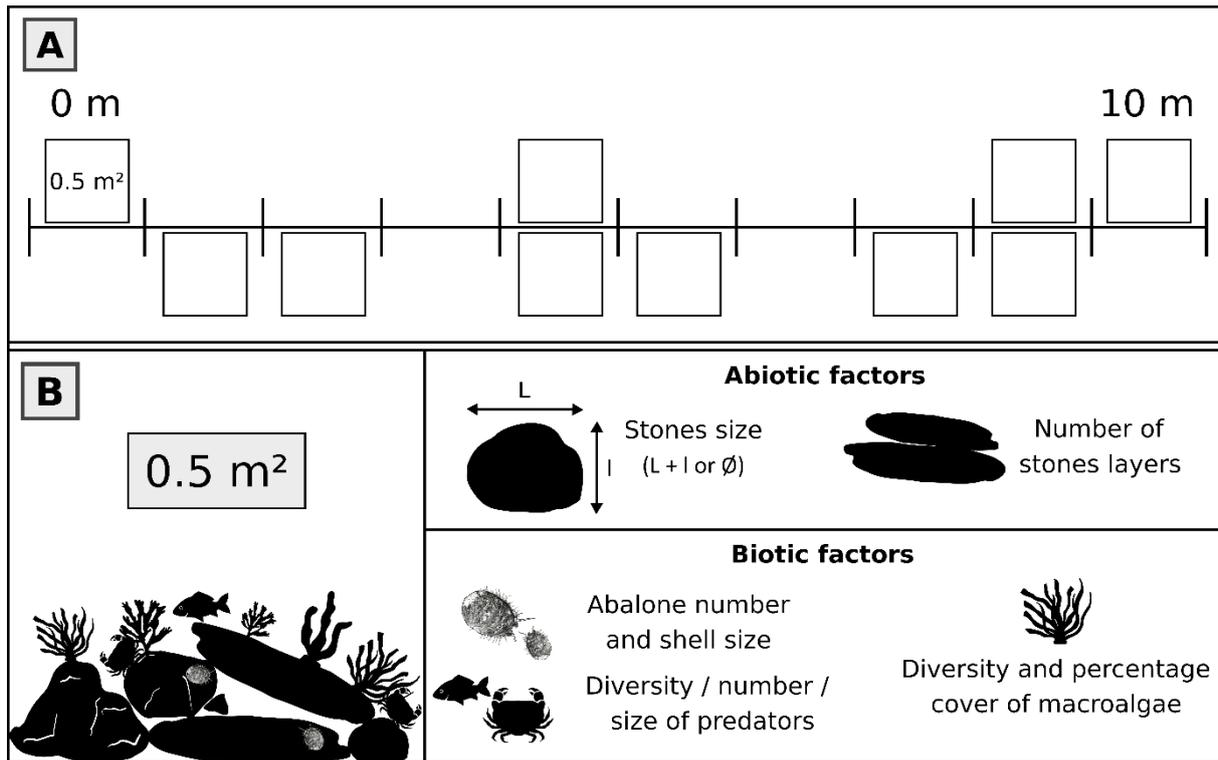


Figure 2: Schematic representation of the material and method used to study the environmental factors in abalone habitat. A) Transect disposed on the bottom with 10 quadrats of 0.5 m² randomly disposed on the right or on the left. B) On the left a schematic representation of the stones and fauna inside each quadrat. On the right the list of the biotic and abiotic factors recorded through direct observation in each quadrat.

2.3. Statistical analyses

Results are given as mean \pm standard error. To test the site effect on the abalone density and shell length, a Welch's Anova with the site (Roscanvel, Aber Wrac'h, Molène) as fixed effect was used because equality of variance could not be verified. To test the effect of the stone surface on the abalone shell length, stone surface was divided in 8 categories [0-200; 201-400; 401-600; 601-800; 801-1000; 1001-1200; 1201-1400; > 1401 cm²). A mixed linear model (LMM) (Bates et al., 2012) contained in the "lmerTest" R package (R core Team, 2019), was applied with the category of stones surface as fixed effect (8 categories), and the site as random effect (i.e. site effect controlled but not studied).

To analyse the substrate complexity effects, the stone layers were divided in two categories: one layer of stones and several layers of stones (≥ 2 layers). The percentage of edible algal cover was also divided in two categories: 0 to 25 % and 25 to 50 % of edible algal cover. To test the effect of the substrate complexity and percentage of edible algal cover on abalone density (individual by m²), we preferred to analyse sites separately due to the

difference in diving effort between the 3 sites (the lower diving effort for Aber Wrac'h and Molène might impair the reliability of the overall results). No comparison was done for the percentage of algal cover for Molène due to the absence of one category (only 25-50% algal cover were observed). Because homogeneity of variance was not verified, Welch t-test was used. If only normality was not verified, a Wilcoxon test was applied.

3. Results

In total, data were collected from 137 quadrats, with 73, 39 and 25 quadrats analysed for Roscanvel, Aber Wrac'h and Molène sites, respectively. On all three sites, the analyses were performed inside a similar depth range, between -3.3 m and + 0.5 m depth. For each quadrat, the depth was normalized from the hydrographic zero, calculated from the depth and the hour of survey.

3.1. Abalone surveys

The number of abalone found in the Roscanvel, Aber Wrac'h and Molène sites is presented in table 1. An effect of the site was observed on abalone density ($F_{2,75} = 15.21$, $P < 0.001$, Welch's test). Abalone density was significantly higher in Roscanvel in comparison to the Aber Wrac'h and Molène sites ($t = 2.12$, $P < 0.001$ and $t = 2.02$, $P < 0.001$, respectively). There was no significant difference in abalone density between Aber Wrac'h and Molène sites ($t = 0.10$, $P = 0.983$). The overall abalone ranged in size from 16 to 108 mm with an average size of 55.7 ± 20.6 mm (Table 1). No effect of site was obtained for abalone shell length ($F_{2,75} = 1.68$, $P = 0.223$).

Table 1: The density and shell length of wild abalone found across the three sampling sites.

Site	Number of quadrats (0,5 m ²)	Number of abalone	Abalone density (ind/m ²)	Size range of abalone (mm) (mean size \pm sd)
Roscanvel	73	100	2.74	18 – 99 (53.8 \pm 18.5)
Aber Wrac'h	39	12	0.62	16 – 108 (68.5 \pm 2.7)
Molène	25	9	0.72	18 – 88 (59.9 \pm 2.8)

3.2. Microhabitat structure

3.2.1. Overall site structure

The stone surface distribution is presented in the figure 3A. The majority of the stones (57 %) had a lower face of less than 200 cm². The stones between 201 and 600 cm² represented 34.1 % of the total stone number. Other categories accounted for only 8.9 % of the stones. The figure 3B shows that only 1.2 % of the smallest stones (from 0 to 200 cm²) were sheltering abalone while 15.0 % of the larger stones, ranging from 600 to 800 cm² did. Finally, the biggest stones (> 1400 cm²) sheltered at least one abalone in 46.4 % of cases (Figure 3B).

The stone surface had a significant effect on the sheltered abalone shell length ($F_{7,106} = 6.18$, $P < 0.001$, LMM analysis). The largest abalone were indeed sheltered under the largest stones (Figure 4). The post-hoc analysis showed that the abalone sheltering under the smallest stones (< 201 cm²) were significantly smaller than those observed under the stones > 201 cm². In addition, above 600 cm², the surface of the stones had a lower impact on the abalone shell length that they sheltered (Figure 4). Hence, beyond 55 mm of shell length the abalone could be sheltered under all the stones larger than 600 cm².

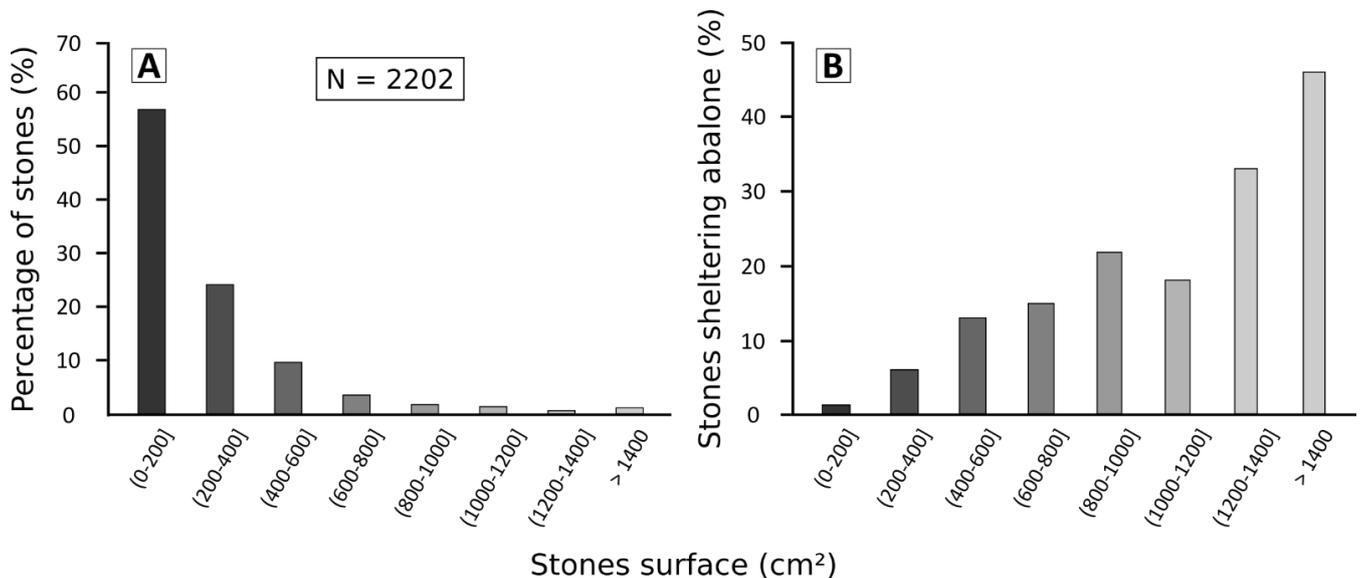


Figure 3: A) Representation of the stones surface distribution across the three sites studied. In total, the surface of 2202 stones was measured. B) Representation of the percentage of stones that sheltered one or several abalone, for each stone surface range.

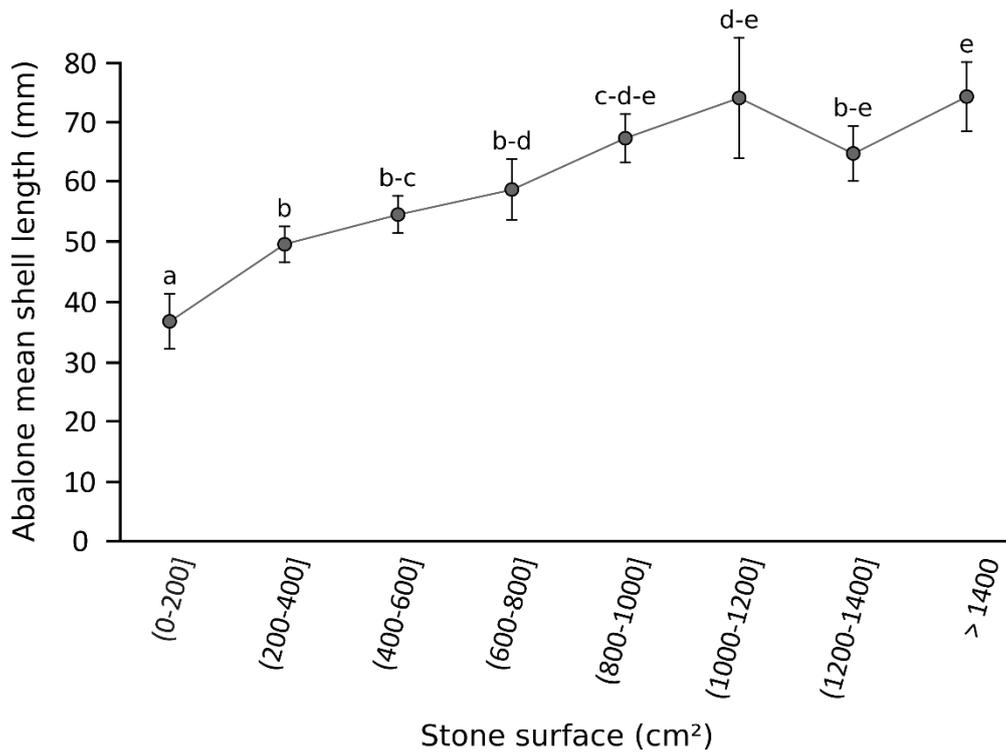


Figure 4: Mean shell length of the European abalone (*Haliotis tuberculata*) sheltered under the stones in function of the stone surfaces. Mixed model analysis. Values that have different letters (a, b, c, d or e) were significantly different ($P < 0.05$).

3.2.2. Microstructure comparison between the sites

The figure 5 presents the abalone density for each site, according to the substrate complexity (i.e. only one layer of stones on the sediment versus several layers of stones). The figure 6 presents the abalone density for each site, in function of the percentage of edible algal cover.

For Roscanvel the abalone density was higher when several layers of stones were present in comparison to only one layer of stone ($t = 4.49$, $P < 0.001$, Welch's test). However, no effect of algal cover was observed on the abalone density ($W = 521.5$, $P = 0.420$, Wilcoxon test). Concerning the Aber-Wrac'h site, the effect of the number of stones layers on the abalone density was non-significant ($t = 0.04$, $P = 0.968$, t-test). In addition, no effect of algal cover was observed on the abalone density ($W = 175.5$, $P = 0.590$, Wilcoxon test). Finally in Molène the effect of the number of stones layers on the abalone density was also non-significant ($t = 1.14$, $P = 0.284$, Welch's test).

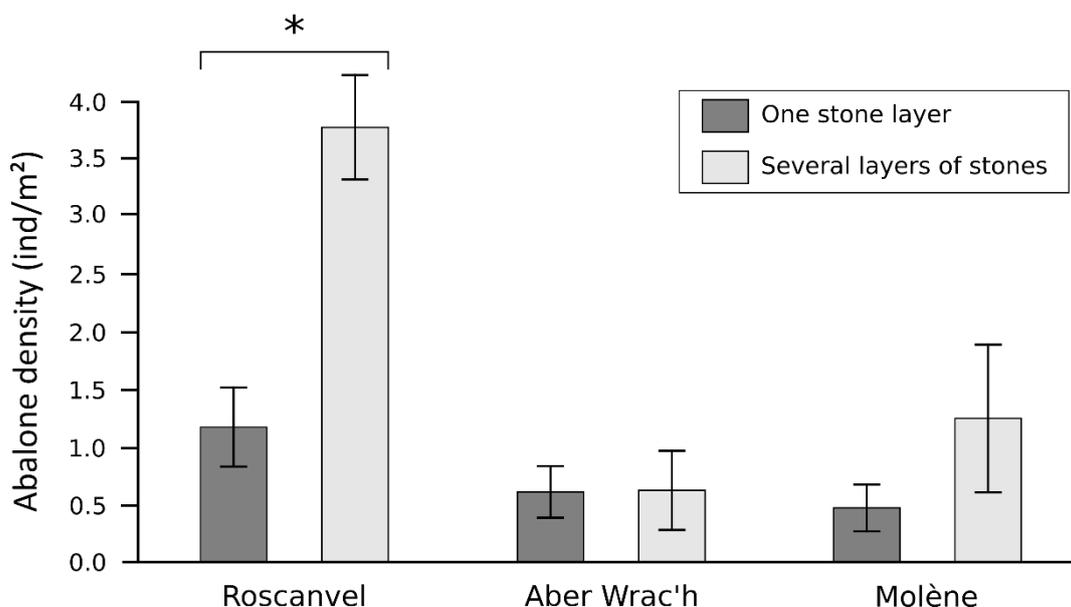


Figure 5: Abalone density for the three natural sites in function of the habitat complexity (number of stone layers) from each quadrat. The data have been analysed independently for each site with Welch's or t- tests.

In total, 19 red, 11 brown and 1 green species of macroalgae have been identified in the three sites. The maximal specific richness was observed in Molène (20 species), whereas the Aber Wrac'h and Roscanvel comprised 14 and 12 species, respectively. All these species were deemed edible for the abalone consumption, excepted two species of red algae (*Solieria chordalis* and *Fucellaria lumbricalis*) and one species of brown algae (*Fucus vesiculosus*).

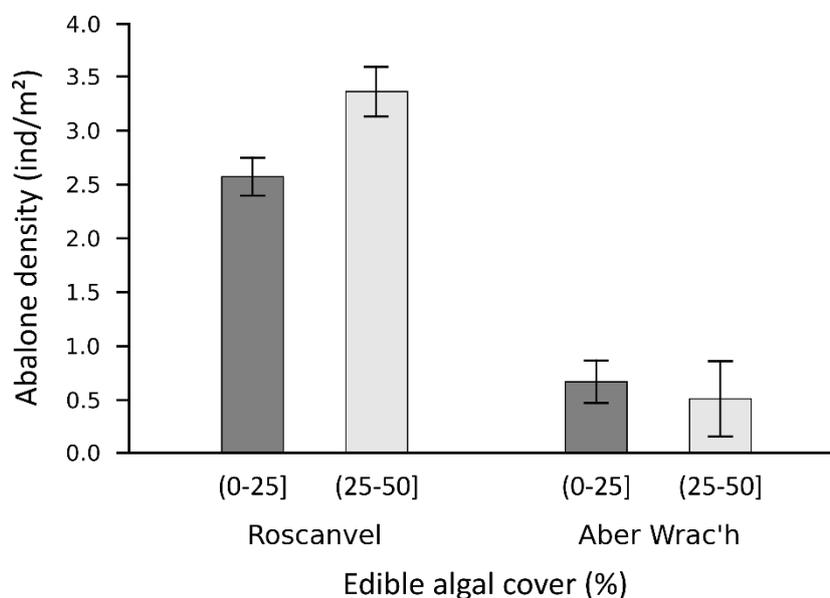


Figure 6: Abalone density for the three sites of the study in function of the edible algal cover (%). The data have been analysed with Wilcoxon tests.

Concerning the predator, only few of them were observed inside the 0.5 m² and comprised mainly the velvet crab (*Necora puber*), the crab *Cancer pagurus* et the starfish *Marthasterias glacialis*.

4. Discussion

This study aimed to explore the environmental factors that are relevant to explain the distribution and density of the European abalone *Haliotis tuberculata* in its natural habitat. Three study sites were selected based on their location. They were chosen in subtidal environment to limit the potential pressure from recreational fishing on the abalone. In addition, no mass mortality events caused by the pathogenic bacteria *Vibrio harveyi* were observed at these sites (Nicolas et al., 2002; Travers et al., 2009). Furthermore, even if not directly assessed with sensors, different swell exposure (from protected in Roscanvel to exposed in Molène) were selected with potential consequences on substrate composition and algal diversity (Shepherd, 1973).

To characterize the variations in the spatial organisation of the substrate relief, the observations were made at a meter scale (Shepherd and Partington, 1995; Le Hir and Hilly, 2005). The use of 0.5 m² quadrats allowed the inclusion of most of the largest stones (i.e. until 70 * 70 cm) in the measurements and was optimal to estimate the percentage of algal cover (De Freitas, 2005). Finally, as discussed by McGarvey et al. (2008), the use of quadrats positioned along transects was appropriate to determine abalone density (McGarvey et al., 2008). Roscanvel was over-represented in abalone number (100 abalone measured) while only few abalone were observed in the two other sites (12 and 9 for Aber Wrac'h and Molène, respectively). These important differences are due to a lesser sampling effort for the last two sites and to a significant difference in abalone concentration between Roscanvel and the two other sites. However, new samplings in 2022 will complete data done in order to rectify this methodological bias for Molène and the Aber Wrac'h sites.

4.1. Overall site structure

Across the three sites, the stones ranged between 0 - 400 cm² surface could be considered as cobbles and were largely dominant since they represented 81 % of the total stones measured (Diaz et al., 2004; DeFreitas, 2005). The stones > 600 cm² accounted for only 9 % of the overall stone ranges although they housed 47.5 % of the abalone observed.

Interestingly, only 1.3 % of the smallest stones (< 200 cm²) sheltered one abalone whereas 46 % of the largest (> 1400 cm²) sheltered up to two abalone. There was a significant relationship between the stones surface and the shell length of the abalone found under. In particular, the stones < 600 cm² mostly housed specimens averaging less than 55 mm in length. In addition, the cobbles (0- 400 cm²) housed several one-year-old juvenile abalone (i.e. under 20 mm) (Clavier, 1987). The cobbles were generally covered with crustose coralline algae which is identified in the literature as the main metamorphosis substrate for almost all abalone species, including *H. tuberculata* (Shepherd, 1973; Won et al., 2013). In addition to the chemical attractant for metamorphosis (Shepherd, 1973), cobbles with crustose coralline constitute a solid support for the foot of juvenile. Juveniles often exhibit a cryptic coloration similar to coralline algae, to avoid predation (Forster, 1962; Prince et al., 1988; Rogers-Bennet et al., 2011; Aguirre and McNaught, 2012; De Wall et al., 2012). As example, Carreon-Palau et al. (2003) found that juveniles < 13 mm from the species *H. fulgens* and *H. corrugata* were mainly observed under cobbles < 15 cm long, covered with crustose coralline algae whereas individuals > 15 mm were preferentially located under biggest irregular-shaped stones (i.e. from 20 to 120 cm). Moreover, Aguirre and McNaught (2012) observed that juveniles of *H. iris* were generally sheltered under the smallest stones of their habitat.

Our results suggest that during its ontogeny, the European abalone shifts from cobbles to the larger stones, as previously described in the literature for the species *H. iris* (Aguirre and McNaught, 2012). Shepherd (1973) also observed that the species *H. laevigata* migrate from cracks to stones when it exceeds 70 mm long. However, many abalone species lose their cryptic behaviour at the adult stage when they reach a specific size, dependant of the species (Shepherd and Partington, 1995; Tomascik and Holmes, 2003; Takami and Kawamura, 2018).

Because *H. tuberculata* remains cryptic throughout its life, its preference should go for habitats providing stones large enough for protection at all life stages (Forster, 1962; Clavier, 1987). Maximum length of *H. tuberculata* is 150 mm (Basuyaux, 1997). Therefore 600 cm² stones (i.e. 30 cm x 20 cm) were large enough to cover all adult stages. With similar interstitial space, the largest stones (> 1400 cm²) would increase the distance between abalone and its potential predators, compared to the smaller stones. In addition, larger stones are more stabilized in case of storms (Lafferty et al., 2004). Another hypothesis to explain the differential habitat in function of the size is the competition between individuals.

Nevertheless, there is no information for this species on the potential intraspecific competition for the stones or the food in the wild.

4.2. Comparisons between the sites

As the habitat complexity was site-specific, its effect on the abalone density was studied independently between the three sites. The relation between habitat complexity (one versus at least two layers of stones) and abalone density was only significant at Roscanvel: three times as many abalone were found in more complex quadrats compared to less complex ones. Such findings have been reported in other field studies that have identified the nature and configuration of substrate as controlling factors of abalone presence and density (Clavier, 1987; Lafferty et al., 2004; Strain and Johnson, 2010). The stacking of stones increases the architectural substrate complexity (Wood, 1993) offering more shelter possibility for abalone and in turn reducing predation risks (Aguirre and McNaught, 2013). Furthermore, Saunders et al. (2009) emphasized that a complex arrangement of stones could increase food availability by hanging of the drifting algae. Results obtained at Roscanvel site suggest that the variations of abalone density as a function of habitat complexity could result either from variation in predation pressure or abalone behavioural choices. The velvet crab (*Necora puber*) and the starfish *Marthasterias glacialis* were indeed present on this entire site and could be more efficient to catch abalone sheltered under a single stone layer. Thus, the results suggests that the substrate complexity can allow high abalone density despite the presence of predators.

To address the effect of algal cover on the abalone density, the percentage of edible algal cover was used without distinction between red, brown and green algae. No effect of algal cover was reported on abalone density in the three sites. In Molène, no abalone was observed in the quadrats with algal cover < 25 %. However, due to the low abalone density and low sampling effort at this site, this result is probably not reliable and complementary dives will be necessary to confirm it. The European abalone feeds mainly on the attached algae, with a preference for red and green species (Clavier, 1987; Roussel et al., 2020) and ingests 10 to 20 % of its weight daily (Basuyaux, 1997). Hence, Clavier and Chardy (1989) estimated that the algal quantity and quality could have a strong impact on the habitat capacity to contain dense abalone populations. The protocol applied here did not allow the estimation of algal biomass, even though the edible cover recorded were likely to provide enough food for the abalone. Moreover, as the abalone can also feed on drift algae provided

by the currents (Richard, 1988), it could be interesting to assess to an estimation of the drift algae biomass inside the quadrats.

Abalone from Roscanvel were smaller than those measured in the Aber Wrac'h site, with intermediate length for Molène abalone. This might be caused by various factors. First, even though the survey was performed in the subtidal zone, the biggest individuals at Roscanvel could have been subjected to recreational fishing pressures (i.e. regulatory size of 90 mm) (Huchette and Clavier, 2004). Indeed, this site was the shallowest and offered easy access for recreational fishing in some areas, while the Aber Wrac'h was too deep to be fished this way. A second hypothesis might be the less favourable environmental conditions in Roscanvel, causing a slower growth rate (Saunders et al., 2009). In fact, even if no data was available, substantial differences in sea water temperature, salinity or human pollution probably occur between Roscanvel, Aber Wrac'h and Molène and should be considered for further analyses. The last hypothesis is the density effect. Roscanvel was characterized by a density nearly four times more important than Molène and the Aber Wrac'h. Yet, the density has been identified as a major factor impacting abalone growth whatever the abalone stage (Huchette et al., 2003).

5. Conclusion

The present study is pioneering the characterisation of *Haliotis tuberculata* habitat. The substrate composition and complexity were the most important abiotic factors to explain the variation in abalone density across the three study sites. In addition, a clear relationship between stone surface and abalone shell length was evidenced. However, algal cover was not found to be a causal factor. Due to limited occurrence, the predator diversity and density could not be linked to the abalone density or shell length. Tomascik and Holmes (2003) encountered the same problem with a similar protocol used to describe the abundance of *H. kamtschatkana*. A specific protocol could be developed to assess the predator concentration and its effects on the abalone density, using a larger spatial scale (e.g. transects of 10 m²). Other biotic and abiotic factors could explain the abalone populations features such as sensors recording currents, waves and water composition (e.g. salinity, turbidity, oxygen) (Shepherd, 1973; Saunders et al., 2009; Rogers-Bennet et al., 2011). Hence, these data will be completed with new surveys, especially in Aber Wrac'h and Molène. Furthermore, the sensors

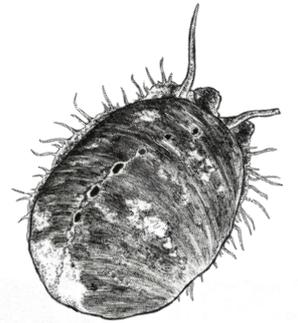
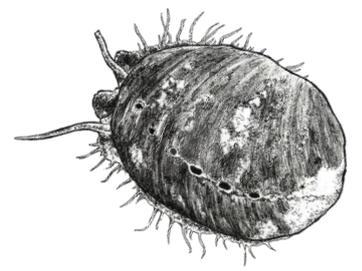
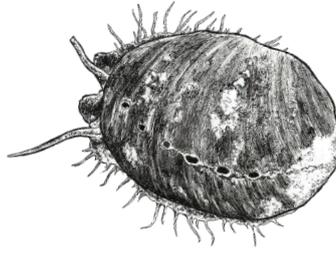
described above will be coupled with models to assess long-term variations with these environmental factors. Finally, multivariate analyses could be developed to better identify the factors that govern abalone densities and shell length.

In addition, only few juveniles were observed. It is possible that their habitat could be partially different from the ones of adults (Prince et al., 1988). In rocky substrates, Clavier (1987) observed regularly juveniles in the intertidal area and we focused on subtidal areas. Thus, a specific protocol of research might be considered for juveniles, with a particular focus on the repartition of crustose coralline algae, from intertidal to the deepest limit of the species (i.e. around 15 m depth) (Clavier, 1987).

In conclusion, our findings show that an implantation site requires the presence of various stone sizes (i.e. from the cobbles to big stones), in order to provide shelters for each developmental stage of the European abalone. In addition, habitat complexity can increase the abalone shelters and chance of survival. Finally, even if the effect of algal cover on abalone density was not significant, the presence of red and brown algae is critical as *H. tuberculata* have been described as an active feeder, depending mainly of the attached algae (Clavier, 1987).

Acknowledgements

P. Chauvaud was funded by a French doctoral research grant from the Region Bretagne (50 %) and the Université de Bretagne Occidentale (50 %). This study was also financially supported by the Region Bretagne and by the FEAMP 'innovation in fisheries' through the 'Ourmel' project. The authors would like to thank the diving team of the Institut Universitaire Européen de la Mer for their precious help during all surveys: Erwan Amice, Isabelle Bihannic and Thierry Le Bec. We also thanks Sophie Martin and Martial Laurans for their advice regarding the protocol development. Finally, thanks to Michel Le Duff and Erwan Ar Gall for their help in macroalgae identification.



CHAPITRE 4

Structure génétique de populations naturelles et d'écloserie de l'ormeau européen *Haliotis tuberculata tuberculata* en Bretagne et en Normandie : leçons pour de futurs programmes de repeuplement et de soutien de stocks

Population genetic structure of natural and hatchery-raised populations of European abalone *Haliotis tuberculata tuberculata* in Brittany and Normandy: lessons for future restocking and stock enhancement programs

Chauvaud, Pierre¹, Charrier Grégory¹, Roussel Sabine¹

Affiliation

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

Chapitre à soumettre en 2023 dans un journal à définir

Contexte et résumé de l'étude

La structure génétique des populations naturelles de *Haliotis tuberculata tuberculata* n'a à ce jour jamais été analysée avec précision. Or, pour être en mesure de sélectionner des géniteurs dont les juvéniles n'altéreront pas le patrimoine génétique des populations ciblées par des implantations, il est nécessaire d'accéder à la structure génétique des populations naturelles (Grant et al., 2017). De plus, les protocoles appliqués en élevage doivent permettre de conserver une forte diversité génétique au fur et à mesure des générations successives.

Dans ce contexte, les objectifs de ce quatrième chapitre de thèse étaient (i) de définir la structure génétique neutre des populations de Bretagne et de Normandie, à l'aide de 158 SNP et d'un échantillonnage représentatif des populations de ces deux régions, mais aussi (ii) de savoir si l'élevage entraînerait des pertes de diversité génétique et des différenciations fortes avec les populations naturelles. Pour répondre à ces questions, des individus sauvages ont été prélevés dans 10 populations naturelles et le suivi des individus d'élevage a utilisé différentes cohortes, issues de trois générations distinctes.

Les résultats de cette étude mettent en évidence une structure génétique nord-sud, probablement due à la présence du front thermique de Ouessant qui agit comme une barrière hydrodynamique de mai à octobre, ce qui limite les flux de larves entre les zones nord et sud. De plus, les populations naturelles sont fortement différenciées des individus d'élevage analysés. En revanche, la diversité génétique reste importante dans les cohortes d'élevage, ce qui semble indiquer une conservation de cette diversité au fil des générations successives. Les résultats de ce chapitre montrent qu'il faudra prendre en compte la structure génétique des populations naturelles avant de sélectionner des géniteurs sauvages pour produire des juvéniles à implanter. De plus, ils témoignent également de la bonne gestion appliquée en élevage, qui devrait permettre aux descendants ainsi produits de conserver une forte diversité génétique.

Abstract

Several natural populations of the European abalone (*Haliotis tuberculata*) declined sharply over the last two decades, mainly due to a pathogenic bacteria (*Vibrio harveyi*). Restocking or stock enhancement operations based on hatchery-reared juveniles might be efficient to restore collapsed populations and preserve fishing activities. Assessing the genetic composition of wild populations and hatchery-reared individuals is a primary concern in supplementation programs, to preserve the genetic diversity and adaptive potential of wild populations. The genetic diversity of ten wild abalone populations was assessed along the coasts of Brittany and Normandy, as well as 14 hatchery-reared samples, using 158 SNPs. Similar levels of genetic diversity were found between wild and hatchery samples. However, wild and hatchery samples were strongly differentiated, thus reflecting genetic drift in the hatchery. In addition, a clear genetic structure was observed between wild northern (from Cherbourg to Saint-Quay-Portrieux) and southern populations (from Guissény to Locmariaquer), indicating a reduced connectivity. The significant genetic structure found between northern and southern populations suggested that the farm broodstock should be chosen depending on the locality where the produced seeds would be released. Moreover, despite hatchery practices ensured a high level of genetic diversity in hatchery-raised cohorts, the strong genetic differentiation found between cultured and wild samples suggested that seeds released in natural populations should be composed of several cohorts and/or generations to limit the genetic heterogeneity between seeded individuals and wild

populations. In addition, using a wild broodstock seemed preferable to limit the loss in genetic diversity and the genetic divergence of produced juveniles in comparison to their wild counterparts, and reduce the risk of domestication of released seeds. Overall, the strategy depicted here should strongly reduce the risk of altering the genetic diversity of natural populations, and thus maintain their adaptive potential to environmental variability.

Keywords: *Haliotis tuberculata*, SNP, genetic diversity, genetic structure, restocking, stock enhancement.

1. Introduction

The worldwide demand for wild abalone has increased sharply over the last decades (Hamasaki and Kitada, 2008). To provide sufficient supplies of wild abalone, many countries have increased the fishing pressure on the populations of their commercial species (Cook, 2014). As a result, the exploited stocks of the twenty commercial abalone species has collapsed over the last decades (Hamasaki and Kitada, 2008), with a global abalone fishery reduction from 20 000t in 1970 to 6500t in 2015 (Cook, 2016). To restore collapsed stocks and ensure sustainable fisheries, several countries have initiated restocking or stock enhancement programs based on the seeding of hatchery-reared abalone (Hamasaki and Kitada, 2008; Searcy-Bernal et al., 2013). On the one hand, the objective of restocking is to re-establish collapsed populations (Bell et al., 2008). On the other hand, stock enhancement aims at increasing the natural supply of juveniles in natural populations by enhancing the spawning biomass, in order to maximise both fishing harvests and the population recruitment (Bell et al., 2008). The success of such programs requires substantial knowledge of the seeded individuals (Huchette et al., 2005), including their physiological and behavioural responses to natural stressors (Lorenzen et al., 2012; Roussel et al., 2019), their ecological requirements (Lessard and Campbell, 2007), and their genetic characteristics in comparison to their wild counterparts (Huchette et al., 2005; Le Vay et al., 2007).

In particular, restocking and stock enhancement programs aim at increasing the abundance of exploited populations without adversely influencing natural populations (Grant et al., 2017; Rhode et al., 2017). Therefore, before seeding hatchery-reared individuals in the wild, the genetic variability of hatchery-reared cohorts should be compared with those of the natural populations located in the vicinity of the seeding sites (Blankenship and Leber, 1995;

Laikre et al., 2010; Bester-Van der Merwe et al., 2011). Ideally, the broodstock and reproduction protocol used in the hatchery should be chosen in order to produce cohorts that display 1/ high level of genetic variability and 2/ limited genetic differentiation with natural local populations (Rhode et al., 2012; Grant et al., 2017). Meeting these two goals is generally challenging for hatchery programs.

Particularly, a lower genetic diversity is commonly reported in hatchery-raised stocks, as shown in the European flat oyster *Ostrea edulis* (Lallias et al., 2010), or in *Haliotis midae* and *H. rubra* (Evans et al. 2004). Captive breeding consists generally in producing a large number of offspring based on a small number of parents. Therefore, most captive stocks display a small effective population size (N_e), thus leading to an erosion of their genetic diversity through increased genetic drift. This is particularly true for shellfish species that are characterised by a high fecundity combined with a large variance in reproductive success (Gutierrez-Gonzalez and Perez-Enriquez, 2005; Gaffney, 2006). However, it is important to note that, in some cases, good levels of genetic diversity can be maintained in hatcheries. For instance, only a limited erosion of the genetic variability was reported in hatchery-raised stocks of great scallop *Pecten maximus* (Morvezen et al., 2016a). Similarly, no reduction in genetic diversity was found in hatchery stocks of *H. fulgens* (Gutierrez-Gonzalez and Perez-Enriquez, 2005).

A strong genetic drift may not only reduce the genetic diversity of hatchery stocks, but may also lead to a significant genetic differentiation between these captive stocks and their wild counterparts. For instance, in the great scallop *Pecten maximus*, contrasted allele frequencies were found between hatchery-raised cohorts released in the Bay of Brest and the natural local population, even though the broodstock used in the hatchery came from the natural local population (Morvezen et al. 2016a). Such changes in allele frequencies were also observed between farmed and natural populations of *H. midae* and *H. rubra* (Evans et al. 2004). As a consequence, the release of hatchery-raised juveniles in the wild may alter the genetic composition and diversity of natural populations, thus inducing a potential risk of reducing their adaptation to local environmental pressures (Price, 1984; Bell et al., 2008; Laikre et al., 2010; Grant et al., 2017).

As mentioned above, it is important to limit the level of genetic differentiation between hatchery-raised stocks and seeded populations in order to reduce the risk of altering the genetic diversity, and thus the adaptive potential, of natural populations. Therefore, a good comprehension of the spatial structure of the genetic variability among the natural populations is crucial to guide a restocking or stock enhancement program. Contrasted patterns of genetic structuring have been reported among natural *Haliotis* populations. On the one hand, high gene flow was observed in *H. rubra* across 1400 km of coastline in Australia (Miller et al., 2016, 2019). On the other hand, strong restrictions to gene flow were detected between *H. midae* populations spread across 1200 km in South Africa (Bester-Van der Merwe et al., 2011). In addition, genomic signatures of adaptive differentiation were identified at local (i.e. tens to hundreds of metres) and regional (i.e. hundreds of kilometres) scales in Australian populations of *H. rubra* (Miller et al., 2019). In agreement with these last results, the ecology of *Haliotis* species suggests a high potential for limited gene flow among populations. Most species are distributed into fragmented populations that are interconnected mainly by larval dispersal, and secondly by movements of adults and juveniles (Morgan and Shepherd, 2006). Abalone species have a short planktonic phase (i.e. about 5 days), which limits their potential for larval dispersal that is typically less than a few kilometres (Morgan and Shepherd, 2006; Imron et al., 2007; Temby et al., 2007). The extent of such dispersion is modulated by larval behaviour (e.g swimming capacity, vertical migration) and local environmental conditions (e.g. ocean currents, wave energy, geographic barriers or the presence of macroalgae on the substrate) (Gruenthal et al., 2007; Temby et al., 2007; Miller et al., 2016).

The European abalone *Haliotis tuberculata* is distributed along the coasts of the NE Atlantic, from Normandy (France) to northern Morocco (Clavier and Chardy, 1989). In particular the subspecies *H. tuberculata tuberculata* is located in the coastal waters of Brittany and Normandy (France). Many populations of this subspecies have declined over the last twenty years, due to the virulence of the pathogenic bacteria *Vibrio harveyi* (Nicolas et al., 2002; Travers et al., 2009). To restore collapsed populations and sustain local fishing activities (i.e. accounting for 60 t landings per year), restocking and stock enhancement programs are presently under consideration for this species along the coasts of Brittany and Normandy. For seeding programs, the juveniles used are produce in hatcheries. In France, France *Haliotis* is

the single abalone farm that control the overall production cycle of *H. tuberculata*. Since 2004, they started a selection program to optimise the abalone growth rate, and has produced five successive generations so far (Lachambre, 2017).

Levels of spatial genetic differentiation of *H. tuberculata tuberculata* populations remain poorly known along the coasts of Brittany and Normandy. Only a couple studies have explored the population genetic structure of *H. tuberculata*. Both studies mostly focused on the degree of differentiation among its three subspecies across the entire distribution range of the species (Van Wormhoudt et al., 2009; Roussel and Van Wormhoudt, 2017). None of these studies underlined any significant population structure among *H. tuberculata tuberculata* samples distributed along the coasts of Brittany and Normandy. However, the genetic markers used (i.e. cytochrome oxidase, sperm lysine gene and eight microsatellite markers) may have been not sufficiently informative to detect subtle genetic structure patterns at a relatively small spatial scale (i.e. a few hundred kilometres).

In this context, the present study aimed at using a larger set of genetic markers to assess levels of genetic structuring of 10 natural *H. tuberculata tuberculata* populations along the coasts of Brittany and Normandy. In addition, the genetic variability of three successive generations of hatchery-reared stocks from an abalone farm, France Haliotis, was explored to evaluate the effect of the selection program conducted in the hatchery. A total of 158 Single Nucleotide Polymorphism (SNP) markers previously developed by Harney et al. (2018) were successfully used to estimate the genetic structure. Overall, the main objective of the study was to provide relevant information to guide restocking and stock enhancement programs, and thus support the sustainability of commercial fisheries targeting local abalone populations.

2. Materials and methods

2.1. Sample collection

Wild populations

Wild individuals were sampled from March to June 2019, across the distribution range of the subspecies *H. tuberculata tuberculata* to assess levels of genetic diversity and spatial population structure patterns (Figure 1, Table 1). A total of 429 wild individuals were sampled

by scuba-diving over 10 sites located along the coasts of Brittany and Normandy (France). For each site, specimens were collected within a 50 m radius of an anchored vessel during a single dive (N = 10-30). Multiple size classes were sampled (i.e. from 20 to 115 mm) to avoid sampling single cohorts. For the Aber-Wrac'h, Molène and Bay of Brest sites, the sampling was replicated three to four times in order to evaluate the robustness of the genetic signal. In each of these three sites, replicated sampling points were separated by 1 to 5 km (Table 1).

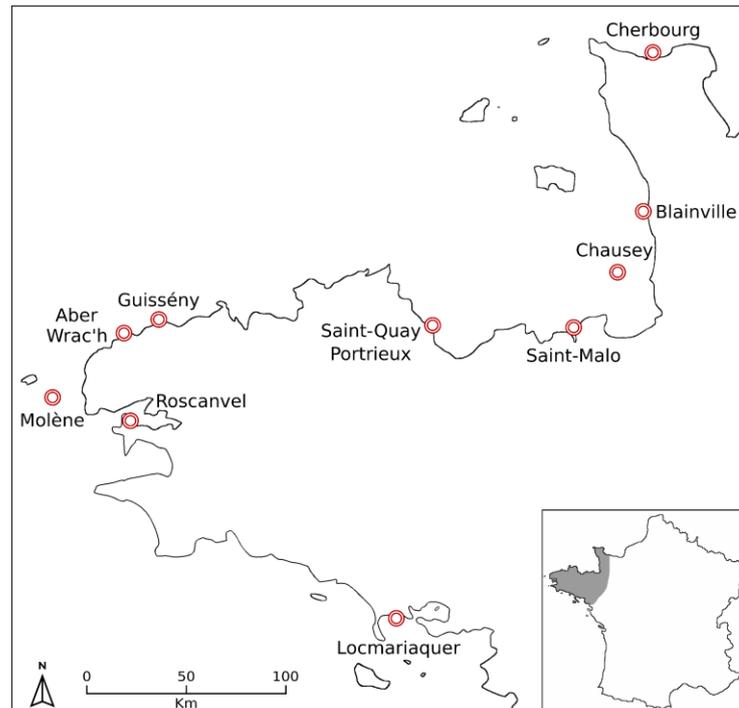


Figure 1: Location of the 10 natural populations of European abalone *Haliotis tuberculata tuberculata* included in the study.

For each individual, a mantle epipodia was sampled from the periphery of the foot, for DNA extraction. Wild individuals were systematically released on their sampling site after tissue collection. Samples were transferred to 1.5 mL Eppendorf tubes filled with 70 % ethanol and stored at 4 °C.

Hatchery-reared individuals

In total, 467 hatchery-reared abalone were obtained from the farm France Haliotis (14 groups in total, from Plouguerneau, Brittany, France). These individuals consisted of offspring and broodstock from the 3rd to the 5th generation of a selection program in which the breeders were the largest 5 % (95th percentile) of their cohort (Table 2). This selection program used crossbreeding of wild and hatchery-reared broodstock for the 2nd and 3rd generations. For the

4th and subsequent generations, only selected farmed broodstock were used. The wild broodstock came from populations located in the Finistère department (Brittany, France), 30 km around the France Haliotis site. Each breeder was used once and the offspring obtained from different spawning events had different parents. Two spawning events were sampled in 2017, three in 2018 and three in 2019. The offspring belonged to the 5th generation of selection and were obtained from various spawning events performed in 2017 and 2018. They have been randomly sampled from their cohorts when they were one year old (i.e. n + 1) and each spawning represented a specific hatchery lineage. The broodstock sampled for this study have been used to produce the offspring of the years 2018 and 2019. The sex of the broodstock used in 2018 were differentiated (i.e. males and females), whereas those used in 2019 not. The females were induced to spawn when they were 4 years old while the males were 3 years old. As a result, the females used in 2018 were born in 2014 and represented the 3th generation of selection. The males of 2018 and the broodstock of 2019 were from the 4th generation (Table 2).

Table 1: List of the natural populations of *Haliotis tuberculata* analysed in the study: geographic region, sampling year, location, sampling code, GPS coordinates and sample size (N).

Geographic region	Sampling year	Location	Sample code	GPS coordinates	Sample size (N)
Normandy	2019	Cherbourg	CHE	49°39'53.7"N / 1°32'19.0"W	30
	2019	Blainville-Sur-Mer	BLA	49°03'54.3"N / 1°37'27.7"W	26
	2019	Chausey	CHA	48°54'08.4"N / 1°50'57.0"W	16
Brittany	2019	Saint-Malo	SMA	48°40'36.2"N / 2°04'42.4"W	30
	2019	Saint-Quay-Portrieux	SQP	48°39'07.1"N / 2°47'09.9"W	30
	2019	Guissény	GUI	48°39'55.3"N / 4°27'26.6"W	28
	2019		ABW-1	48°36'38.6"N / 4°35'25.2"W	30
	2019	Aber-Wrac'h	ABW-2	48°37'00.0"N / 4°36'50.7"W	15
	2019		ABW-3	48°38'20.4"N / 4°33'49.7"W	25
	2019		MOL-1	48°23'15.3"N / 4°57'24.2"W	27
	2019	Molène	MOL-2	48°22'23.8"N / 4°56'48.7"W	30
	2019		MOL-3	48°23'10.9"N / 4°55'58.5"W	10
	2019		MOL-4	48°23'44.0"N / 4°53'47.3"W	30
	2019		BOB-1	48°18'12.2"N / 4°32'07.3"W	27
	2019	Bay of Brest	BOB-2	48°19'25.8"N / 4°27'49.4"W	15
	2019		BOB-3	48°37'01.4"N / 4°36'53.8"W	30
2019	Locmariaquer	LOC	47°32'22.4"N / 2°59'06.4"W	30	

Table 2: List of the 14 hatchery-reared abalone (*Haliotis tuberculata*) sampled from the farm France Haliotis. The individuals consisted of offspring and broodstock of respectively 1 and 3 – 4 years old. The abalone from the 2017 and 2018 were the 5th generation of selection, the broodstock from the 2014 spawning belonged to the 3rd generation, and the broodstock from the 2015 and 2016 spawning corresponded to the 3rd generation of selection.

Sampling year	Generation of selection	Spawning date	Sex	Cohort	Spawning batch	Sample code	Sample size (N)
2018	5	2017	Undetermined	Offspring	1	G5-17-1	50
2018	5	2017	Undetermined	Offspring	2	G5-17-2	50
2019	5	2018	Undetermined	Offspring	1	G5-18-1	50
2019	5	2018	Undetermined	Offspring	2	G5-18-2	50
2019	5	2018	Undetermined	Offspring	3	G5-18-3	50
2018	4	2015	Males	Broodstock	1	G4-18-1	18
2018	4	2015	Males	Broodstock	2	G4-18-2	17
2018	4	2015	Males	Broodstock	3	G4-18-3	18
2018	3	2014	Females	Broodstock	1	G3-18-1	20
2018	3	2014	Females	Broodstock	2	G3-18-2	18
2018	3	2014	Females	Broodstock	3	G3-18-3	20
2019	4	2015 - 2016	Undetermined	Broodstock	1	G4-19-1	36
2019	4	2015 - 2016	Undetermined	Broodstock	2	G4-19-2	32
2019	4	2015 - 2016	Undetermined	Broodstock	3	G4-19-3	38

2.2. SNP selection and laboratory genetic analysis

DNA extraction was performed by LGC genomics according to their standard protocol, with tissue lysis achieved by Proteinase K, and subsequent binding, washing and elution steps achieved using proprietary buffers.

Individual samples were genotyped with 192 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) markers. These markers were chosen among the 500 SNPs developed by Harney et al. (2018) for conducting parentage assignment in the hatchery stock from France Haliotis. First, we included the subset of 123 SNPs selected by Harney et al. (2018), that displayed a MAF (Minor Allele Frequency) > 0.2 and allowed successful parentage assignments for the offspring and broodstock of 2018. In addition, 69 additional SNPs with a MAF ranging between 0.38 and 0.50 were included, to reach a total of 192 SNPs.

High throughput SNP genotyping was conducted by LGC genomics using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) assays, allowing bi-allelic scoring of SNPs. On the 192 SNP initially

analysed by LGC genomics, only 158 provided satisfactory results and were used for subsequent data analysis.

2.3. Data analysis

Intra-population genetic diversity

For each population sample, allelic richness (Ar), observed (Ho) and expected (He) heterozygosity and the Wright's fixation index (F_{is}) were calculated with the R package *diveRsity* (Keenan et al., 2013). The significance of the F_{is} estimates was estimated with 10,000 bootstrap replicates. In order to evaluate the partitioning of the genetic variability within the hatchery, genetic diversity estimators of single population samples were compared with those obtained when 1/ grouping samples by generations (G3-G4 vs G5), or 2/ grouping all hatchery samples together (Farm-tot).

Population genetic structure

Levels of population differentiation were assessed using the R package *hierfstat* (Goudet, 2005). Pairwise population genetic differentiation was estimated with the Wright's statistics (F_{ST}) with the "pairwise.WCfst" function, according to Weir and Cockerham (1984). The significance of F_{ST} estimates was tested with the function "boot.ppfst", with a 1000 permutations of individuals among populations.

Isolation by distance (IBD) was tested with a Mantel test in *Genetix 4.05* (Belkhir, 2004). Correlation between linearized pairwise F_{ST} estimates ($F_{ST}/(1-F_{ST})$) and geographical distances was evaluated between all natural population samples with a Z-statistics, and its significance was tested with 5000 permutations. Geographical distances were measured as the minimum distances between sampling locations, by following the coastline between 0 and 20 m depth.

3. Results

3.1. Genetic diversity

Allelic richness was comparable between natural and hatchery-reared samples, ranging from 1.867 to 1.909 in the wild, and from 1.850 to 1.917 in the hatchery (Table 3). Levels of heterozygosity were also similar between natural samples (Ho = 0.284-0.345, He =

0.341-0.375) and hatchery samples ($H_o = 0.305 - 0.368$, $H_e = 0.323 - 0.369$). Grouping hatchery samples by generation or for the whole farm led to roughly the highest values of A_r and H_e ($A_r = 1.914 - 1.918$, $H_e = 0.362 - 0.367$), but H_o remained comparable to those observed for single hatchery cohorts ($H_o = 0.323 - 0.352$). A deficit in heterozygotes in comparison to the Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) was found in all natural samples ($F_{is} = 0.038 - 0.181$); only four of these estimates were significant. Hatchery samples displayed mostly lower, and non-significant, deficits in heterozygotes ($F_{is} < 0.034$, except for G5-17-1: $F_{is} = 0.125$, $p < 0.001$), and five of these samples showed non-significant excess in heterozygotes ($F_{is} < 0$). Pooling hatchery samples by generation or for the whole farm led to significant deficiencies in heterozygotes in comparison to HWE ($F_{is} = 0.085 - 0.120$, $p < 0.001$).

3.2. Population genetic structure

Pairwise F_{ST} comparisons underlined very contrasted results between natural and hatchery samples (Figure 2). Since pairwise F_{ST} estimates were extremely close to zero (*i.e.* $F_{ST} < 0.002$) when comparing sampling replicates collected in the Bay of Brest (BOB), Molène (MOL) and Aber-Wrac'h (ABW), replicates were grouped within each of these three sites for subsequent analysis of population genetic structure.

The population genetic structure was mostly low and non-significant between natural populations distributed from Cherbourg (CHE) to Saint-Quay-Portrieux (SQP) in the northern part of the studied area (group "North" in Figure 2: $F_{ST} = 0.0012 - 0.0110$, only three significant values out of ten sample comparisons). Pairwise F_{ST} estimates were even weaker and mainly non-significant between samples ranging from Guissény (GUI) to Locmariaquer (LOC) in the southern part of the area (group "South": $F_{ST} = -0.0029 - 0.0025$, only one significant value out of ten sample comparisons). In contrast, the genetic differentiation between the "North" and "South" groups was stronger, and all comparisons between samples from these two groups were significant ($F_{ST} = 0.0097 - 0.0353$).

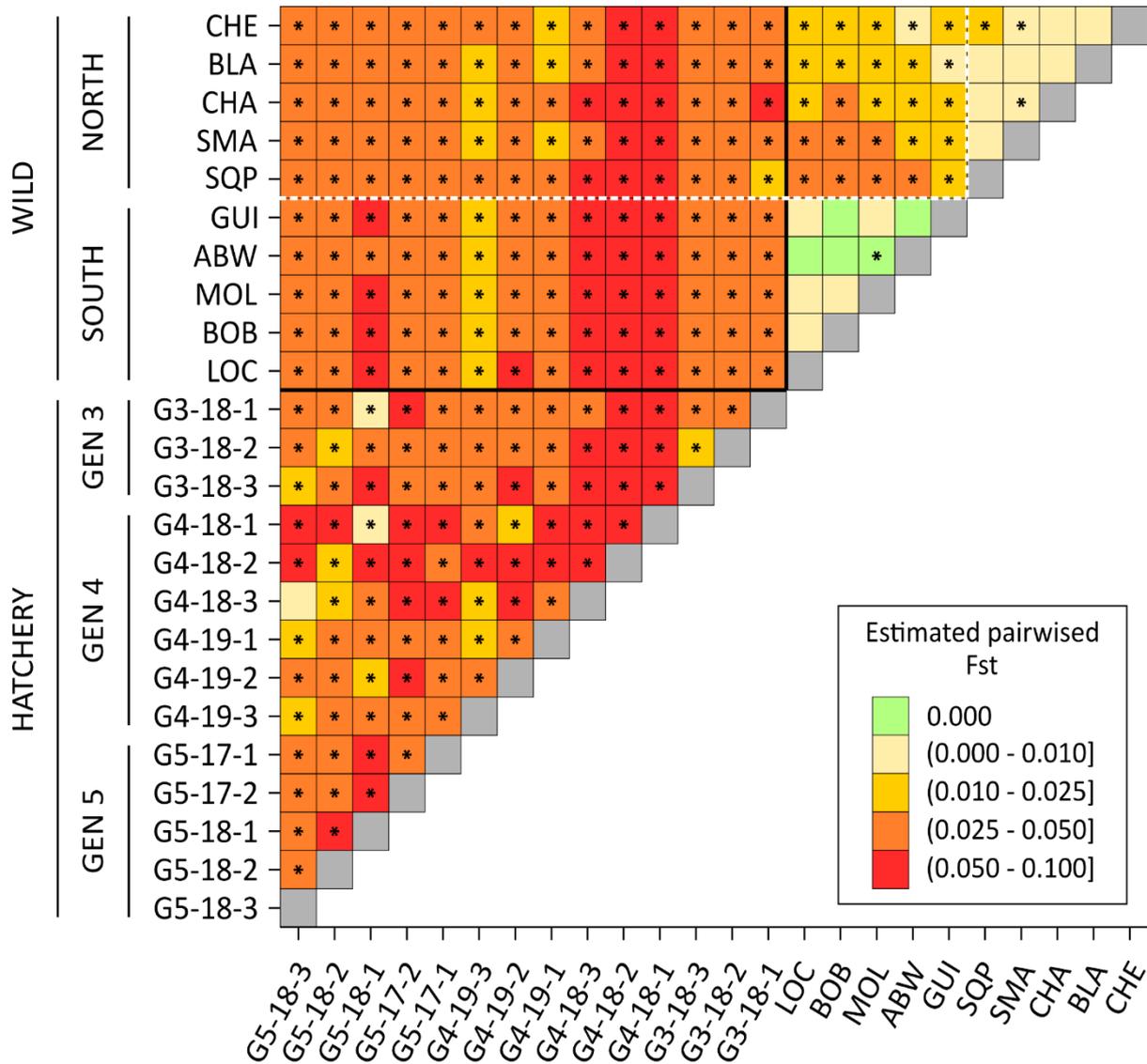


Figure 2: Pairwise F_{ST} estimates between natural and hatchery population samples. The significance was tested with 1000 permutations of individuals among populations (* significant F_{ST} estimates).

Hatchery-reared samples appeared highly differentiated from natural population samples ($F_{ST} = 0.0163 - 0.0743$) as well as from each other ($F_{ST} = 0.0088 - 0.0983$), and all estimates involving hatchery samples were significant. One single hatchery sample displayed a lower, but significant, genetic differentiation with natural samples (G4-19-1: $F_{ST} = 0.0186 - 0.0356$). In contrast, the males used as broodstock in the hatchery in 2018 (samples G4-18-1 to G4-18-3) showed substantially higher F_{ST} estimates with natural samples ($F_{ST} = 0.0382 - 0.0743$) and even other hatchery samples ($F_{ST} = 0.0097 - 0.0983$).

A substantial variation in pairwise F_{ST} estimates was observed when natural population samples were compared with each of the 14 hatchery samples listed in Table 2 (Figure 3; $F_{ST} = 0.0163 - 0.0743$). However, the genetic differentiation between natural and hatchery

samples decreased sharply when hatchery samples were clustered by generation ($F_{ST} = 0.0165 - 0.0295$) or when all hatchery samples were gathered together ($F_{ST} = 0.0167 - 0.0289$). Overall, the level of population genetic structure between hatchery and natural samples was similar when considering either the “North” or “South” groups of populations.

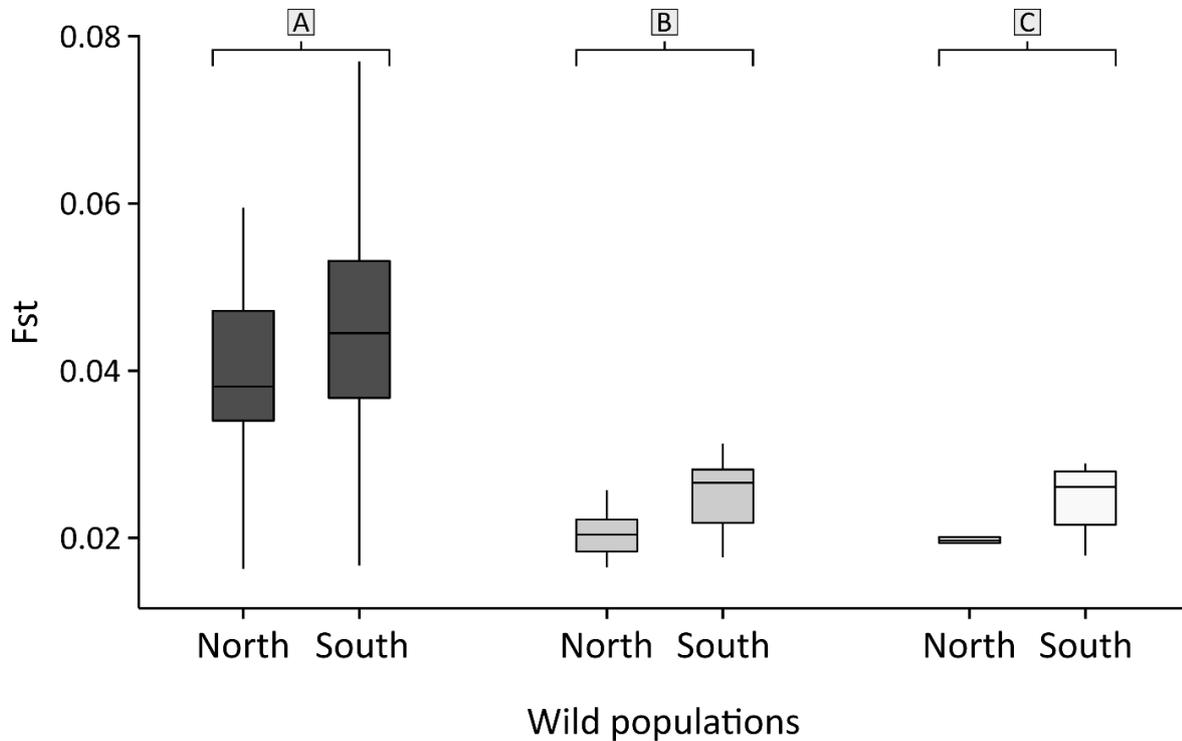


Figure 3: Level of genetic differentiation between hatchery samples and natural population samples from the “North” and “South” groups (see Figure 2). Variations in F_{ST} estimates are reported when comparing natural samples with: (A) hatchery samples considered individually ($n = 14$ cohorts, as in Figure 2), (B) hatchery samples clustered by generation (*i.e.* G3 + G4 and G5, $n = 2$ generation groups), and (C) hatchery samples clustered in a single group ($n = 1$ farm group).

Table 3: Genetic diversity estimates assessed in natural population and hatchery cohorts of abalone, with 158 SNPs. In addition, the genetic diversity within the hatchery was evaluated by grouping hatchery samples by generation (G3-G4 and G5) or for the whole farm (Farm-tot). The significance of F_{is} estimates was tested using 10 000 bootstrap replicates (* $p < 0.05$, *** $p < 0.001$).

	Natural populations																
Population	CHE	CHA	BLA	SMA	SQP	GUI	ABW-1	ABW-2	ABW-3	MOL-1	MOL-2	MOL-3	MOL-4	BOB-1	BOB-2	BOB-3	LOC
Allelic richness (Ar)	1.909	1.895	1.897	1.896	1.895	1.893	1.901	1.908	1.908	1.908	1.901	1.871	1.906	1.903	1.891	1.867	1.917
Observed heterozygosity (Ho)	0.337	0.323	0.32	0.326	0.309	0.335	0.344	0.339	0.345	0.337	0.344	0.309	0.332	0.322	0.319	0.284	0.341
Expected heterozygosity (He)	0.364	0.346	0.359	0.349	0.347	0.354	0.369	0.353	0.361	0.365	0.363	0.341	0.368	0.365	0.353	0.349	0.375
Fis	0.08	0.057	0.115	0.061	0.111*	0.055	0.058	0.043	0.038	0.075	0.054	0.095	0.104*	0.113	0.084	0.181***	0.095*
	Hatchery Cohorts																
Population	G3-18-1	G3-18-2	G3-18-3	G4-18-1	G4-18-2	G4-18-3	G4-19-1	G4-19-2	G4-19-3	G5-17-1	G5-17-2	G5-18-1	G5-18-2	G5-18-3	G3-G4	G5	Farm-tot
Allelic richness (Ar)	1.874	1.872	1.897	1.85	1.855	1.871	1.915	1.869	1.917	1.866	1.875	1.871	1.895	1.906	1,915	1,918	1,914
Observed heterozygosity (Ho)	0.347	0.341	0.348	0.366	0.336	0.328	0.368	0.355	0.358	0.305	0.344	0.333	0.347	0.346	0,336	0,352	0,323
Expected heterozygosity (He)	0.331	0.341	0.349	0.33	0.323	0.334	0.366	0.338	0.369	0.347	0.34	0.339	0.35	0.354	0,362	0,367	0,362
Fis	-0.039	0.003	-0.002	-0.097	-0.039	0.012	0.001	-0.036	0.034	0.125***	0	0.026	0.017	0.025	0,085***	0,048***	0,12***

The Mantel test performed when including all natural population samples was significant ($Z = 334,37$, $p\text{-value} = 0,038$). However, this result was probably largely influenced by the significant genetic differentiation observed between the “North” and “South” population groups (Figure 2). As a consequence, the correlation between linearized F_{ST} estimates and geographic distances was also explored within each of the “North” and “South” groups. The Mantel test conducted within each of these groups provided non-significant results (“North”: $Z = 13.16$, $p = 0.129$; “South”: $Z = 1.18$, $p = 0.130$).

4. Discussion

4.1. Genetic structure among natural populations

A clear and significant population genetic differentiation was observed between the northern (i.e. from Cherbourg to Saint-Quay-Portrieux) and southern (i.e. from Guissény to Locmariaquer) parts of the studied area. This result contrasts with a previous study that did not detect any difference in genetic structure between northern (i.e. Omonville-la-rogue, Agon and Chausey) and southern (i.e. Aber-Wrac’h, Bay of Brest and Merrien) population samples (Roussel et Van Wormhoudt, 2017). However, this study was based only on a mitochondrial marker combined with a nuclear gene and eight microsatellites. Therefore, this limited set of markers had probably less power to detect genetic differentiation patterns of *H. tuberculata tuberculata* populations distributed over a few hundreds of kilometres from Normandy to Brittany, in comparison to the 158 SNPs used in the present study.

A similar genetic structure was reported between northern and southern great scallop (*Pecten maximus*) populations distributed in the same area as those explored in the present study (Handal, 2019). More precisely, based on a set of > 10.000 SNPs, significant $F_{ST} = 0.003\text{--}0.005$ were found between samples located in the north (i.e. Granville to Morlaix) and those from the south (i.e. Bay of Brest to Armen). In addition, the Morlaix population also appeared significantly differentiated from both northern (i.e. Granville to Saint-Brieuc) and southern (i.e. Bay of Brest) populations ($F_{ST} = 0.002 - 0.003$). Combining genomic data and larval dispersal modelling suggested the existence of a strong barrier to larval dispersal between northern and southern populations that might be induced by the Ouessant front (Handal, 2019). The Ushant front is a seasonal tidal front that occurs from May to October, and that may reduce population connectivity in local marine benthic-pelagic invertebrates by

preventing larval dispersal (Ayata et al., 2010). This hypothesis is very likely in European abalone, since the spawning period of this species extends mostly from June to September (Clavier, 1987; Mgaya and Mercer, 1994), and thus coincides with the period when the Ushant front is well established. Interestingly, the genetic differentiation between northern and southern populations is much stronger in European abalone than in the great scallop, with F_{ST} estimates varying between 0.010 - 0.050 and 0.003 - 0.005, respectively. Such contrasted levels of differentiation might be related to the fact that the duration of the planktonic phase is much shorter for the abalone (i.e. around 5 days) than for the great scallop (i.e. 18 - 42 days; Le Pennec, 2003), thus further reducing potential for gene flow between northern and southern populations in abalone.

Despite the short pelagic larval stage and the limited dispersal potential of adults in *H. tuberculata tuberculata*, a lack of population genetic structure was observed at a small spatial scale within each of the northern and southern groups of the studied area. Congruently, the lack of isolation by distance pattern within each of these two groups underlined by Mantel tests suggest that geographic distances do not restrict gene flow among populations in spite of the supposed limited potential for dispersal of abalone. This finding is in line with the fact that high genetic connectivity has also been found among populations of other abalone species, such as *Haliotis rubra* in Australia (Miller et al., 2016) or *Haliotis rufescens* in California (Gruenthal et al., 2007). In contrast, reduced gene flow seems also to exist at a very small spatial scale (i.e. 100 m to 10 km) in *Haliotis rubra* in Tasmania, suggesting that larval dispersal may be limited to less than 100 m in this species (Temby et al., 2007). These contrasted results underline that small-scale connectivity among European abalone populations along the coasts of Brittany and Normandy should be further investigated. In particular, geographically close populations might be genetically structured in the case of intermittent or low gene flow and restricted N_e (Morgan and Shepherd, 2006; Whiterod et al., 2016). Subtle structuring patterns at a small spatial scale could be explored by (1) applying a population genomics approach to screen a larger set of markers, and (2) testing the effect of smallscale environmental heterogeneity, as performed by Miller et al. (2019) for *H. rubra* in south-eastern Australia. Based on 5239 SNPs, Miller et al. (2019) detected subtle genetic structure at local (i.e. 10s to 100s of metres) and regional (i.e. 100s of kilometres) scales in association with environmental

heterogeneity (i.e. currents, temperature, wave energy, geology), although a lack of population genetic differentiation was found at the global scale.

The strong genetic differentiation assessed between northern and southern abalone populations in the studied area should be carefully taken into consideration for future restocking or stock enhancement programs. In other words, the broodstock used to produce of juveniles for restocking or stock enhancement programs should originate from the same region as where juveniles are expected to be released, in order to avoid altering the genetic variability of natural populations (Laikre et al., 2010; Van den Bergh and Roodt-Wilding, 2010; Bester-Van der Merwe et al., 2011).

4.2. Retention of the genetic diversity in the hatchery-raised stock

Levels of genetic diversity were quite similar between natural and hatchery samples. In addition, allelic diversity (A_r) and expected heterozygosity (H_e) reached almost their highest values when hatchery samples were grouped by generation or for the whole farm. In particular, diversity estimates in pooled hatchery generations or in the whole hatchery stock were slightly higher than those reported in the wild populations where originated the broodstock used to initiate hatchery generations, i.e. Guissény, Aber-Wrac'h and Bay of Brest. Moreover, genetic diversity seemed relatively stable over hatchery-raised generations. Several other studies conducted on various abalone species obtained similar results. For instance, heterozygosity values appeared to be comparable between wild broodstock and hatchery-reared offspring in *H. fulgens*, even though the reproduction in hatchery had been conducted with a very small broodstock that included only 16 to 22 adults (Gutierrez-Gonzalez and Perez-Enriquez, 2005). In the same way, equivalent levels of allelic diversity and heterozygosity were found between wild and F_1 hatchery-reared individuals of *H. midae* (Rhode et al., 2012).

These results suggest that the breeding protocol developed in France Haliotis (i.e. crossing 20 males and 20 females of different generations) avoided any noticeable erosion of the genetic variability across generations, and even maximised this diversity. Therefore, for restocking or stock enhancement perspectives, the farm France Haliotis is able to produce juveniles with a high degree of genetic diversity, as advocated by Grant et al. (2017).

However, conclusions about genetic variability of the hatchery stock should be tempered since the SNP markers used to obtain these estimates might suffer from ascertainment bias (Lachance and Tishkoff, 2013; Malomane et al., 2018). More precisely, the 158 SNPs used in the present study had been previously developed to perform parentage assignment on hatchery-reared *H. tuberculata* individuals in the farm France Haliotis (Harney et al. 2018). Therefore, the selection of this set of markers was biased toward those that were the most polymorphic in the hatchery stock. This ascertainment bias could have resulted in an overestimation of the genetic diversity in hatchery samples. As a consequence, high genetic diversity levels reported in the present study should be further confirmed with a larger set of markers. In particular, a RADseq approach (Restriction Site Associated DNA sequencing (Baird et al., 2008; Andrews et al., 2016) would be appropriate to analyse several thousands of SNPs randomly distributed in the genome in order to compare the genetic diversity between natural populations and hatchery samples.

4.3. Genetic differentiation of the hatchery-raised stock

Hatchery samples were consistently highly differentiated from natural population samples. A similar pattern was reported between farmed and wild populations in other abalone species, i.e. *H. midae* in South Africa and *H. rubra* in Australia (Evans et al., 2004; Rhode et al., 2012), as well as the great scallop in the Bay of Brest (Morvezen et al., 2016b). Such a strong genetic divergence of hatchery-raised cohorts is a common phenomenon that is attributable to small effective population size in hatcheries (e.g. Evans et al., 2004; Lallias et al., 2010; Rhode et al., 2012; Morvezen et al., 2016a) as well as substantial variance in reproductive success (e.g. Boudry et al., 2002; Morvezen et al., 2013), that trigger large and stochastic variations of allele frequencies in cultured stocks (Laikre et al., 2010).

However, the genetic differentiation with natural populations was largely decreased when hatchery samples were grouped by generation or gathered in a single hatchery pool. This observation suggests that seeds used in restocking or stock enhancement programs should not belong to a single spawning batch, but should be rather composed of several cohorts and/or generations. This method is likely to decrease the overall genetic differentiation between hatchery-raised individuals and their wild counterparts, thus reducing the risk of altering the genetic diversity of natural populations (Hornik and Plough, 2019).

Moreover, using juveniles produced with a wild broodstock instead of using juveniles descending from a hatchery stock reared in the hatchery for several generations is preferable to further decrease the level of genetic heterogeneity between hatchery-raised seeds and natural populations.

In addition, using a wild broodstock should limit the risk of domestication of produced juveniles. Domestication processes generally induce a lower fitness of farmed organisms after their release in the wild, notably because of intentional or unintentional selective forces occurring in the hatchery (Christie et al., 2014). Such a lower fitness of seeds released in the wild may in turn reduce the adaptive potential of seeded populations to environmental variability. As demonstrated in salmonids, a reduction of the fitness of hatchery-raised individuals in the wild can happen very rapidly, even after a single generation in hatchery (Araki et al., 2007; Christie et al., 2012, 2014). Therefore, using a wild broodstock to produce seeds appears as the best strategy to maintain the adaptive potential of natural populations, and thus ensure their long-term sustainability.

5. Implications for future restocking, sock enhancement programs and perspectives

The present study provided crucial information to guide future restocking and stock enhancement programs that are under development to ensure the sustainability of natural exploited populations of *H. tuberculata tuberculata* along the coasts of Brittany and Normandy. First, the significant genetic structure found between northern and southern populations shows that the farm broodstock must be chosen depending on the locality where the produced seeds are expected to be released.

Second, even though breeding practices developed at France Haliotis seem appropriate to ensure a high level of genetic diversity in hatchery-raised cohorts, the strong genetic differentiation reported between hatchery and wild samples suggests that seeds released in natural populations must be composed of several cohorts and/or generations in order to limit the genetic heterogeneity between hatchery-raised individuals and wild populations.

Third, using a wild broodstock is preferable for the production of juveniles intended for restocking or stock enhancement, rather than using individuals descending from several

successive hatchery-raised generations. This method should minimise the loss in genetic diversity and the genetic divergence of produced juveniles in comparison to their wild counterparts. It should also limit the risk of domestication of released seeds.

Overall, all the precautions listed above should strongly reduce the risk of altering the genetic diversity of natural populations, and thus maintain their adaptive potential to environmental variability. However, the fitness of hatchery-raised individuals should be investigated in the wild, in order to evaluate the possible impact of released seeds on the adaptive potential of natural populations. This issue must be addressed to develop appropriate management measures that would ensure the long-term sustainability of abalone populations exploited along the coasts of Brittany and Normandy.

Acknowledgements

P. Chauvaud was funded by a French doctoral research grant from the Region Bretagne (50 %) and the Université de Bretagne Occidentale (50 %). This study was also financially supported by the Region Bretagne and by the FEAMP 'innovation in fisheries' through the 'Ourmel' project. The authors thank the team of divers from the Institut Universitaire Européen de la Mer for their help in sampling: Erwan Amice, Isabelle Bihannic, Thierry Le Bec and Emilie Grossteffan. We also thank the SMEL and especially Olivier Basuyaux for their logistical help in the sampling of abalone in Cherbourg. They also provided the individuals from Blainville-sur-Mer and Chausey. Finally, we want to thank professional divers who provided samples from Saint-Quay-Portrieux and Saint-Malo: Françoise Calvez, Christian Aillet and Philippe Orveillon.



DISCUSSION

GÉNÉRALE

1. Synthèse

L'objectif central de ce travail de thèse était de construire un socle de connaissances empiriques sur des facteurs biotiques et abiotiques susceptibles d'influencer la réussite de futurs programmes d'implantation de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*). En effet, les individus implantés dans le milieu naturel sont produits en éclosion, ce qui force à réfléchir aux effets de ce processus d'élevage sur la capacité de ces ormeaux à survivre dans le milieu naturel, sans provoquer de dommages aux populations naturelles. Pour appréhender ces questions, une approche pluridisciplinaire a été développée selon quatre axes de travail complémentaires, détaillés dans les quatre chapitres de ce manuscrit. Les axes 1, 2 et 4 ont étudié des facteurs intrinsèques aux ormeaux alors que l'axe 3 s'intéressait à l'analyse de paramètres environnementaux.

Le premier axe a consisté à approfondir les connaissances actuelles sur les modifications comportementales induites par le processus de domestication. Plus précisément, l'objectif était de déterminer si ce processus pouvait modifier les comportements de réponses anti-prédatrices de juvéniles à court terme (quelques minutes), leur rythme d'activité en situation stressante, ainsi que leur survie dans des conditions proches du milieu naturel. Le deuxième axe visait à estimer les effets conjoints du stress induit par la préparation et par le transport des juvéniles avant leur implantation, sur leur comportement. Ainsi, les juvéniles ont été soumis à une privation de nourriture et à plusieurs niveaux de stress physiques et environnementaux. Par la suite, un protocole relativement similaire à celui développé dans le premier axe a été mis en place pour analyser leurs réponses comportementales. L'objectif du troisième axe était double et consistait dans un premier temps à définir les contours actuels de l'aire de répartition de *H. t. tuberculata*, et en parallèle de caractériser son micro-habitat à l'échelle du mètre. Le but était ici de mettre en évidence des relations entre certaines caractéristiques physiques ou biologiques de l'habitat rocheux et la présence d'ormeaux sauvages. Enfin, le dernier axe s'est intéressé à la diversité et à la structure génétique des populations naturelles de l'ormeau européen en Bretagne et en Normandie. De surcroît, cette étude génétique a inclu des individus issus de plusieurs générations de sélection en élevage. L'ambition de ces analyses était de fournir des recommandations pour guider le choix des géniteurs à utiliser pour la production de juvéniles en éclosion, par la suite destinés à être implantés dans le milieu naturel. En effet, il est

nécessaire de garantir que cette implantation de juvéniles nés en écloserie n'altère pas la diversité génétique des populations sauvages, pour ne pas porter préjudice au potentiel adaptatif, et donc à la survie à long-terme de celles-ci.

Cette démarche a permis d'apporter des éléments de réponses essentiels pour traiter la problématique initiale. La suite de cette discussion générale synthétisera les principaux résultats obtenus, portera une réflexion quant à leur signification et proposera des perspectives qui pourront contribuer à la mise en place de programmes de repeuplement ou de soutien des stocks de l'ormeau européen, destinés à garantir la durabilité des populations exploitées en Bretagne et Normandie.

2. Synthèse des résultats associés aux analyses comportementales

2.1. La domestication n'affecte pas le comportement des juvéniles

La domestication peut être définie comme le processus par lequel des organismes sauvages s'adaptent aux conditions d'élevage au cours des générations passées en captivité (Price, 1984; Lorenzen et al., 2012). Ce processus engendre des modifications génétiques transmises d'une génération à l'autre, ainsi que des adaptations comportementales induites par l'environnement d'élevage, et propres à chaque génération (Jensen, 2006; Lorenzen et al., 2012). Aussi, tout programme qui ambitionne d'implanter dans le milieu naturel des organismes élevés en captivité doit s'assurer que les comportements adoptés par ceux-ci en réponse aux divers facteurs environnementaux leur permettent de maximiser leur survie à court et long terme (Straus et Friedman, 2009).

Afin de traiter cette problématique, les réponses comportementales de deux lignées de juvéniles d'ormeaux (16 mois) élevés en écloserie et issus respectivement de parents sauvages ou d'élevage ont été comparées. Il est à noter que les parents issus d'élevage résultaient d'un programme de sélection conduit sur trois générations pour maximiser la croissance individuelle. La part héritable du processus de domestication a été isolée en assurant des conditions d'élevage identiques entre les deux lignées (Lorenzen et al., 2012). Les comportements analysés correspondaient à des réponses de court, moyen et long terme. Les mesures ont été réalisées en laboratoire, avec des dispositifs expérimentaux permettant une bonne maîtrise de la variabilité environnementale, et un suivi précis du comportement des animaux. Les ormeaux ont été directement exposés à des étoiles de mer pour les tests de

court terme, et à des étrilles pour les tests à moyen et long terme (dans des aquariums et des mésocosmes, respectivement).

Synthèse des principaux résultats

Aucun effet significatif du processus de domestication n'a été mis en évidence sur les comportements anti-prédateurs et le rythme d'activité des ormeaux. Toutefois, la présence de prédateurs (dans le cas présent des étrilles adultes) a significativement modifié l'activité des ormeaux, ainsi que leur taux de survie. Ces résultats montrent que les modifications génétiques induites par le processus de domestication opéré au sein de l'entreprise France Haliotis n'altèrent pas, à ce stade, les réponses comportementales de juvéniles de 16 mois (Price, 1984; Jensen, 2015).

En revanche, bien que cela n'ait pas été testé ici, les comportements des ormeaux pourraient être modifiés par les conditions d'élevage rencontrées pendant le développement ontogénique (c'est-à-dire par l'autre composante du processus de domestication). En effet, des réactions anti-prédatrices moins marquées ont été observées chez des ormeaux d'élevage de 3,5 ans issus d'un croisement entre des reproducteurs sauvages et d'élevage non sélectionnés, relativement à des individus sauvages de même taille mais prélevés dans le milieu naturel (Lachambre et al., 2017a). En considérant que ce type de comportement ne soit pas influencé par une évolution génétique liée à l'élevage, comme démontré dans les résultats obtenus dans l'étude présentée ici, les résultats de Lachambre et al. (2017 a) suggèrent que la durée d'exposition aux conditions d'élevage peut modifier les réponses anti-prédatrices de l'ormeau européen (El Balla et Blouin-Demers, 2011). Il ne peut donc pas être exclu que le comportement des juvéniles issus de reproducteurs sauvages mais élevés en éclosérie soit différent de celui exprimé par des juvéniles sauvages.

2.2. Les stress mécaniques induisent des changements de comportement

Durant les jours et les heures qui précèdent l'implantation d'ormeaux d'élevage dans l'environnement naturel, ceux-ci sont soumis à divers stress, liés notamment aux processus de préparation et de transport (Kiyomoto, 2007; Hansen et Gosselin, 2013; Melville-Smith et al., 2013). En effet, l'un des deux essais pionniers d'implantation de *H. tuberculata*, mené par Clavier (1987), s'est soldé par 66 % de mortalité pendant les phases de manipulation et de

transport. Dès lors, appréhender les effets du stress induit en amont de l'implantation est indispensable pour optimiser la survie des ormeaux.

Les effets potentiels de plusieurs facteurs de stress ont été étudiés grâce à une approche basée sur l'étude du comportement. En effet, le stress peut engendrer des perturbations physiologiques (par exemple épuisement des réserves énergétiques), dont les effets peuvent se traduire par des ajustements au niveau comportemental (Buss et al., 2015; Kaiser et al., 2017). Les ormeaux étudiés étaient âgés de 24 mois et issus de parents sauvages, prélevés dans les Côtes d'Armor, à Saint-Quay-Portrieux. Ces juvéniles ont été exposés à deux niveaux de nutrition (*ad libitum* ou privation complète pendant 10 jours) et deux niveaux de stress (intensité de manipulation et durée d'exondation modérée ou forte). Les tests comportementaux réalisés étaient similaires à ceux menés dans l'analyse des effets de la domestication.

Synthèse des principaux résultats

Les manipulations et exondations ont induit des comportements anti-prédateurs moins efficaces, avec une fuite face à une étoile de mer significativement moins rapide et moins marquée, ainsi qu'un temps de latence d'abritement plus important. Il est possible que ces réponses témoignent d'une altération transitoire des réserves énergétiques contenues dans le pied (Malham et al., 2003; Goldstein et Kopin, 2007). Ces modifications métaboliques peuvent être liées à un épuisement des réserves de glycogène et d'arginine du pied et du muscle adducteur, ou encore à des niveaux élevés de métabolites tels que les lactates, la dopamine ou la noradrénaline dans l'hémolymphe (Baldwin et al., 1992; Wells et Baldwin, 1995; Malham et al., 2003).

La privation de nourriture a quant à elle engendré une légère augmentation du temps passé à se nourrir au cours de la première nuit de suivi du rythme d'activité des ormeaux. En revanche, elle n'a pas entraîné de modification des réponses comportementales à court-terme. Étant donné que ces comportements nécessitent l'utilisation rapide de réserves énergétiques, ces résultats suggèrent que la privation de nourriture de 10 jours n'a pas entraîné d'épuisement de ces réserves. Plusieurs études soulignent la forte résilience des ormeaux face à la privation de nourriture, avec un épuisement partiel des réserves en

glycogène ne devenant significatif qu'après 27 jours chez *H. kamtschatkana* (Carefoot et al., 1993), ou encore après 56 jours chez *H. rubra* (Sheedy et al., 2016).

De plus, ni la privation de nourriture, ni le stress fort n'ont causé de surmortalité, que ce soit en présence ou en absence d'étrilles adultes. Ceci suggère que la modification des comportements anti-prédateurs liée aux agents stressants n'était pas suffisante pour avoir un effet sur la mortalité des individus ou leur capacité à échapper aux prédateurs. Toutefois, la présence d'une densité importante de prédateurs (c'est à dire 4 étrilles par m²) a significativement réduit le taux de survie des ormeaux, quel que soit leur traitement. Il est donc possible que la pression de prédation ait été trop importante pour détecter une survie différentielle fine entre les traitements.

2.3. Perspectives des mesures comportementales

Les mesures comportementales menées au cours de cette thèse étaient appropriées pour évaluer les effets de la domestication et de facteurs de stress. La suite de cette partie propose un inventaire non exhaustif des perspectives ouvertes dans ces deux premiers chapitres.

Les travaux réalisés dans le premier chapitre témoignent de l'absence d'effets du processus de domestication. Malheureusement, l'effet de l'environnement d'élevage sur les comportements n'a pas pu être analysé. En effet, cela aurait nécessité de comparer des ormeaux d'écloserie avec des individus sauvages. Or, il aurait été difficile de prélever un nombre suffisant de juvéniles sauvages dans le milieu naturel. En effet, le faible nombre de juvéniles observés lors de nos plongées montre la difficulté d'en observer et d'en capturer de grandes quantités. De plus, le fait que les ormeaux sauvages ne soient jamais exposés à des manipulations humaines pourrait biaiser les résultats des comparaisons comportementales, en générant un stress supplémentaire lors des tests comportementaux (Lachambre et al., 2017a).

Les expositions à des prédateurs au sein des mésocosmes ont entraîné des taux de mortalité importants au cours des deux études. Cependant, le suivi de la mortalité n'a été réalisé qu'après 21 et 10 jours, pour les chapitres un et deux, respectivement. Cela ne nous a pas permis d'évaluer la dynamique de mortalité des ormeaux en mésocosmes. De nombreux travaux relatent que la mortalité des ormeaux par prédation survient majoritairement dans

les premiers jours qui suivent l'implantation (Goodsell et al., 2006; Hansen et Gosselin, 2013). Cette dynamique de mortalité a été également observée lors du suivi du rythme d'activité en aquariums (chapitre 1), où la majorité des ormeaux capturés par les étrilles l'étaient dans les premiers jours. Ces observations ont montré que les ormeaux prédatés étaient majoritairement ceux qui se camouflaient le moins, ou qui se déplaçaient en journée. Il serait donc pertinent de répéter des expériences en mésocosmes en intégrant un suivi journalier des taux de mortalité. Il faut toutefois noter que ce suivi journalier est difficile à envisager car cela nécessiterait de retourner les roches quotidiennement, ce qui entraînerait des stress importants pour les ormeaux et les prédateurs, et pourrait donc biaiser les résultats de façon substantielle.

Les analyses menées dans le second chapitre ont montré un effet du stress de manipulation et de transport sur le comportement anti-prédateur des ormeaux, traduisant probablement une diminution de leurs réserves énergétiques (Malham et al., 2003). Dès lors, un suivi de l'état des réserves énergétiques serait utile pour évaluer si l'épuisement des réserves en glycogène est responsable des différences comportementales obtenues, comme cela a été observé chez *H. midae* (Kaiser et al., 2017). De plus, le suivi de cette cinétique permettrait d'appréhender le temps de récupération nécessaire aux ormeaux après la manipulation et le transport. En cas de transport prolongé (supérieur à quelques heures) vers les sites d'implantation, cela permettrait d'envisager l'application de mesures de précaution pour allouer aux ormeaux un temps de récupération avant de les relâcher dans l'environnement naturel (par exemple la rétention des ormeaux dans une cage immergée et fermée pendant une journée après le transport).

Dans le chapitre deux, la période de privation de nourriture retenue était de 10 jours car cela correspond à la durée maximale de jeûne que des juvéniles provenant d'écloserie peuvent subir avant d'être implantés dans le milieu naturel. Néanmoins, comme étudié précédemment chez *H. kamtschatkana* (Carefoot et al., 1993) et *H. rubra* (Sheedy et al., 2015), il serait intéressant de savoir à partir de quelle durée la privation de nourriture entraîne des changements significatifs dans l'état des réserves énergétiques de *H. tuberculata*. Cependant, nos résultats indiquent que les effets de ce stress nutritionnel de 10 jours restent très modérés. Ceci met en évidence le fait que la restriction alimentaire n'est probablement pas

un facteur important à intégrer pour améliorer la survie des ormeaux lors des programmes d'implantation, au moins à court terme.

L'ensemble des analyses comportementales ont été réalisées en conditions expérimentales dans des mésocomes ou aquariums. Par conséquent, en amont de futurs programmes de repeuplement ou de soutien de stocks, il sera nécessaire de compléter les résultats obtenus en estimant directement dans l'environnement naturel les effets de la domestication et du stress sur les taux de mortalité. Par exemple, ceci pourrait être réalisé à l'aide d'implantations expérimentales de petite envergure, spécifiquement dédiées à ces questions scientifiques. Néanmoins, à l'inverse des mésocosmes, il est très difficile d'estimer avec exactitude les taux de mortalité dans l'environnement naturel (Lebata-Ramos et al., 2013). En effet, les ormeaux peuvent se déplacer et se camoufler de manière à rester invisibles aux examinateurs (De Waal et al., 2003). Il est aussi possible que les coquilles d'individus prédatés soient fragmentées (par exemple par des crabes), ou dispersées au gré des courants (Hofmeister et al., 2018). Toutes ces limites devront nécessairement amener à élaborer un protocole permettant un suivi le plus exhaustif possible des taux de mortalité dans le milieu naturel.

3. Répartition de l'ormeau européen et caractérisation de son habitat

A notre connaissance, les limites de l'aire de répartition de la sous-espèce *H. t. tuberculata* n'ont pas été actualisées depuis plusieurs décennies (Clavier, 1987). Or, les populations naturelles d'ormeau européen sont soumises à plusieurs facteurs qui menacent leur dynamique et leur pérennité, engendrant ainsi une évolution possible de l'aire de distribution de cette sous-espèce depuis les travaux de Clavier (1987). Par exemple, la bactérie pathogène *Vibrio harveyi* a engendré à partir de 1997 des épisodes de mortalité massive dans les populations de Normandie et du sud et nord Bretagne, tout en épargnant en partie les populations Finistériennes (Nicolas et al., 2002). De surcroît, la dégradation des habitats côtiers, notamment sous l'effet des pressions anthropiques ou des changements globaux, est un facteur supplémentaire susceptible d'impacter la répartition des populations naturelles (Kunze et al., 2021). Des écrits historiques font état de la présence de *H. t. tuberculata* de Dunkerque jusqu'au bassin d'Arcachon (Faideau, 1921; Weulersse, 1928; Gaillard, 1958). Néanmoins, le fait que la répartition de cette sous-espèce se soit étendue jusqu'à Dunkerque

peut être remise en question. En effet, en 1913 le naturaliste Dautzenberg localisait la limite de l'aire de répartition de l'ormeau aux alentours de Chausey, alors même que celui-ci travaillait à proximité de Dunkerque (Wimereux). Il apparaît donc probable que l'aire de répartition de l'ormeau n'ait jamais été aussi étendue au nord que ce que le prétendent certains écrits historiques.

Pour évaluer les contours actuels de l'aire de répartition de cette sous-espèce, une enquête a été réalisée auprès de pêcheurs professionnels d'ormeaux et d'organismes associatifs et institutionnels. Cette étude visait également à mettre en évidence de potentielles zones de discontinuité (par exemple des plages ou estuaires) dans la répartition en Bretagne et en Normandie.

Le second objectif de ce chapitre a consisté à approfondir la connaissance de l'habitat de l'ormeau à micro-échelle (échelle du mètre). Les caractéristiques physiques et environnementales des sites de réimplantation doivent en effet être évaluées et jugées favorables avant toute implantation, pour optimiser les chances de survie et pérenniser les populations implantées (Huchette et al., 2005). Pour cela, un protocole a été élaboré puis éprouvé en plongée sous-marine sur trois sites du Finistère, distincts par leur exposition théorique à la houle mais tous localisés à la même profondeur et composés de champs de blocs rocheux connus pour abriter des populations d'ormeaux. Il s'agissait par ordre croissant d'exposition à la houle de : Roscanvel (Rade de Brest), la sortie de l'Aber-Wrac'h (Mer d'Iroise Nord) et les abords de l'île de Molène (Mer d'Iroise). Plusieurs facteurs de l'environnement tels que la structure physique du substrat ou la densité en ormeaux ont été mesurés pour chaque site, à l'intérieur de quadrats de 0,5 m².

Synthèse des principaux résultats

Les résultats suggèrent que l'aire de répartition de *H. t. tuberculata* s'est réduite au nord et au sud au cours des dernières décennies, pour se limiter aux seules côtes de la Bretagne et de la Normandie. De plus, il apparaît que l'habitat de l'ormeau est discontinu à moyenne et petite échelle (c'est-à-dire respectivement à l'échelle de la dizaine de km ou de la centaine de mètres), et que les densités en individus sont maximales en zone subtidale par rapport à la zone intertidale.

Les plongées ont permis de mettre en évidence et de quantifier l'importance que revêt la complexité du substrat rocheux dans la capacité d'un habitat à accueillir des ormeaux. En effet, la taille et l'arrangement des blocs rocheux semblent jouer un rôle prépondérant dans cette fonction. Une corrélation positive et significative a ainsi été obtenue entre la surface des blocs et la taille des ormeaux qu'ils abritent. De plus, le nombre de couches de blocs rocheux, qui peut être considéré comme une estimation de la complexité architecturale du substrat, influençait positivement et significativement la densité en ormeaux (Clavier, 1987). En revanche, la richesse spécifique et le pourcentage de recouvrement du substrat par des macroalgues n'apparaissent pas comme des facteurs susceptibles d'expliquer les variations de densités en ormeaux au sein des différents sites. Enfin, trop peu de prédateurs ont été observés pour pouvoir fournir des données exploitables quant au rôle potentiel direct de ces prédateurs sur la répartition des ormeaux.

Perspectives

- **Répartition de l'ormeau européen**

L'enquête réalisée afin de définir les contours actuels de l'aire de répartition de *H. tuberculata tuberculata* a fourni des résultats satisfaisants pour la Bretagne et la Normandie. En revanche, quelques interrogations demeurent quant à la persistance de certaines populations naturelles au sud du Morbihan, notamment au niveau de l'île d'Yeu. Aussi, il serait intéressant d'entreprendre des recherches de plus grande envergure, soit en échangeant avec d'avantage d'acteurs locaux (plongeurs et apnéistes notamment), soit en menant sur place des plongées exploratoires sur des sites en marge de l'aire de distribution actuelle connue, préalablement identifiés comme propices à la présence d'ormeaux.

- **Protocole de caractérisation de l'habitat**

Les résultats de la caractérisation de l'habitat de l'ormeau ouvrent de nombreuses perspectives pour faire évoluer le protocole établi. En effet, celui-ci pourrait être étoffé, notamment pour permettre l'observation d'un nombre d'ormeaux et de prédateurs plus conséquent. Le protocole employé dans l'étude présentée ici a en effet permis de recenser seulement 12 et 9 ormeaux à l'Aber-Wrac'h et Molène, respectivement. Ainsi, en plus des relevés faits à l'intérieur des quadrats de 0.5 m², il serait intéressant de réaliser un échantillonnage exhaustif des ormeaux et de leurs prédateurs le long de transects couvrant

une surface de 10 m² (par exemple exploration le long d'un transect de 5 m sur une largeur de 1 m de part et d'autre ; Figure 1A ; McGarvey et al., 2008). Cela permettrait d'une part de conserver les informations relatives à la complexité du substrat et à la richesse algale (estimés à l'intérieur des quadrats de 0.5 m²), impossibles à acquérir sur une surface de 10 m². Ce protocole offrirait d'autre part la possibilité d'enrichir le jeu de données décrivant la relation entre la taille des ormeaux et celle des blocs qui les abritent (estimée à l'intérieur des quadrats de 0.5 m² et des transects). De plus, ce nouveau protocole permettrait de rééquilibrer le nombre d'ormeaux observés entre les trois sites étudiés, qui est actuellement sur-représenté à Roscanvel, pour des raisons de logistique et de conditions météorologiques de travail défavorables en 2020 - 2021. Enfin, l'amélioration du protocole permettrait également l'observation d'un nombre suffisant de prédateurs potentiels (par exemple tourteaux, étrilles, homards, poulpes ou encore étoiles de mer), afin d'avoir une meilleure évaluation de leurs densités dans chaque site.

Les sites sélectionnés pour la caractérisation de l'habitat n'ont pas permis de mesurer de fortes densités d'individus juvéniles (c'est à dire de taille inférieure à 30 mm) (Forster, 1967). Il est possible que leur coloration rosée, très proche de la couleur des algues corallinacées encroûtantes, les ait rendus invisibles à tout ou partie des plongeurs, comme l'illustre la photographie présentée dans la figure 2. De plus, des observations réalisées en élevage montrent qu'à partir de 7 – 8 mm les juvéniles ont tendance à se camoufler au maximum. Il est probable que les individus sauvages adoptent un comportement similaire dans le milieu naturel. Etant donné qu'il est possible que nous n'ayons pas trouvé tous les juvéniles présents à l'intérieur des quadrats analysés, tout protocole visant à estimer leur densité devra donc s'attarder plus longuement à l'observation de chaque bloc, notamment ceux couverts par des corallinacées encroûtantes.

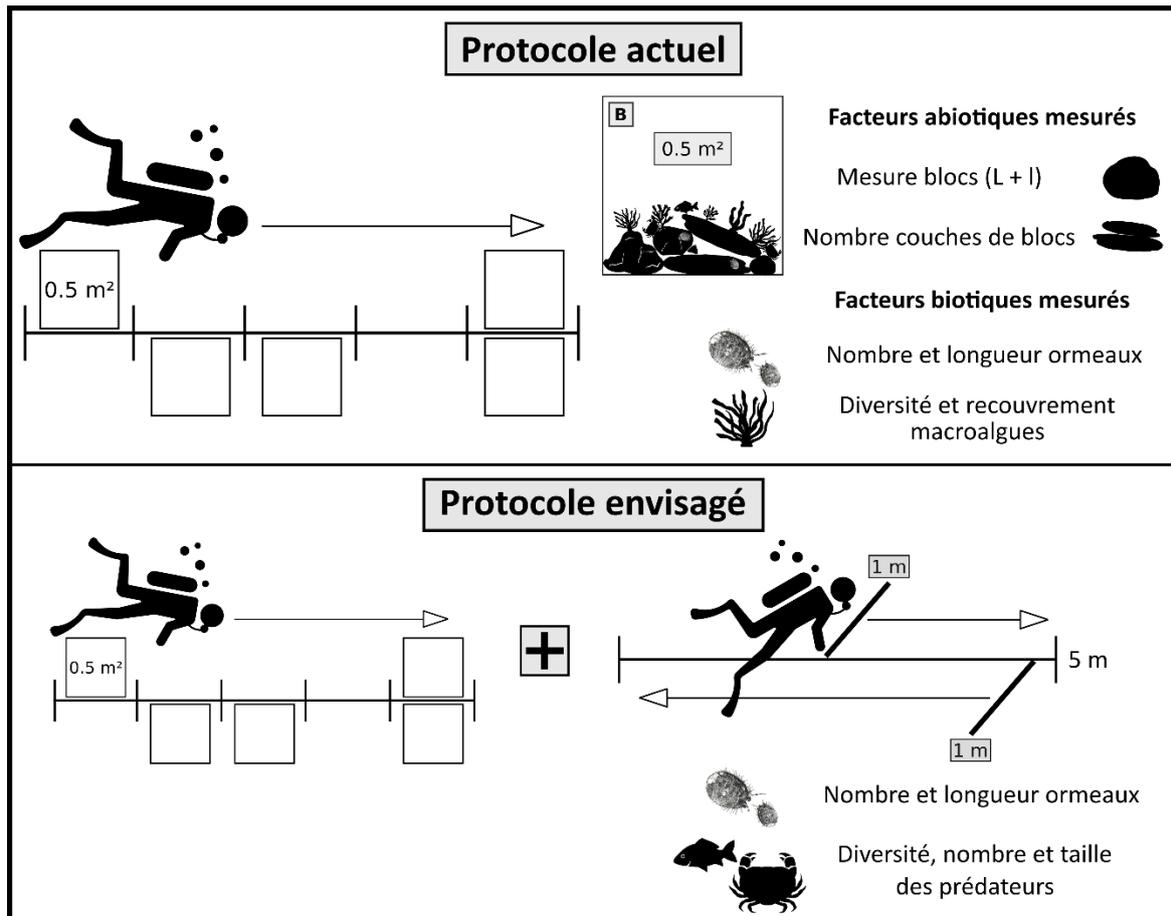


Figure 1 : Evolution du protocole envisagé pour l'avenir. Conservation des quadrats de 0.5 m² et ajout de transects dédiés uniquement à la recherche d'ormeaux et de prédateurs.

Comme l'a souligné Clavier (1987), il est également possible que les juvéniles évoluent préférentiellement en zone intertidale, avant qu'une partie d'entre eux ne migre en zone subtidale au cours de leur croissance. Or, la caractérisation de l'habitat a été menée exclusivement en zone subtidale, pour limiter les effets de la pêche récréative. Aussi, la comparaison des densités de juvéniles entre les zones intertidale et subtidale des trois sites d'étude pourrait permettre de vérifier si l'hypothèse émise par Clavier (1987) est exacte. De plus, étant donné que les programmes de repeuplement / soutien de stocks utilisent des ormeaux juvéniles, il sera nécessaire d'évaluer si leur niche écologique présente des spécificités par rapport à celle des adultes. De nouvelles mesures de caractérisation de l'habitat spécifique aux juvéniles ne devront être entreprises qu'après avoir déterminé quelle gamme de profondeur leur est optimale.

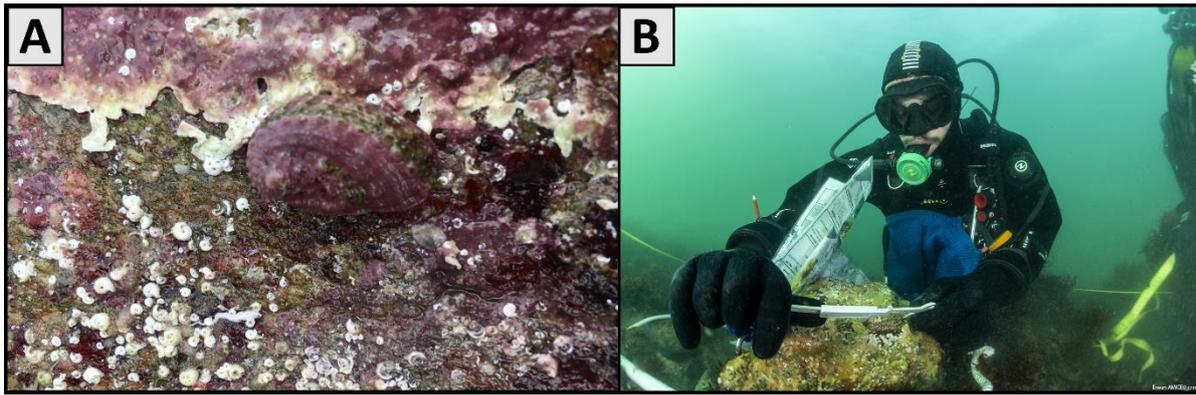


Figure 2 : A) Illustration d'un juvénile de *Haliotis tuberculata* de 23 mm observé à Molène en février 2021. B) Illustration de la mesure au pied à coulisse de la longueur de coquille d'un ormeau (© Erwan Amice).

Variables additionnelles permettant d'affiner les comparaisons inter-sites

Les ormeaux observés au cours des plongées ont fait l'objet d'une unique mesure de longueur de coquille avant d'être relâchés (Figure 2A). Cependant, l'acquisition de données supplémentaires telles que la vitesse de croissance, ou le contenu stomacal fournirait de nouveaux indicateurs de la qualité des sites.

Ainsi, des disparités inter-sites dans la vitesse de croissance des ormeaux pourraient aider à déterminer l'existence de niches écologiques contrastées entre les trois sites analysés. En effet, la température, la disponibilité alimentaire, la présence de prédateurs ou encore la densité en ormeaux sont autant de facteurs susceptibles d'impacter la croissance des ormeaux (Clavier, 1987). Toutefois, bien que plusieurs études s'y soient intéressées à travers le monde, il est très compliqué d'estimer l'âge d'un ormeau avec des méthodes simples et peu onéreuses (Shepherd et al., 1995; Roussel et al., 2011; Sumitomo et al., 2011). Des approches de sclérochronologie pourraient être envisagées (faibles coûts et rapidité), mais aucune méthode n'a encore permis une estimation fiable de l'âge et de la dynamique de croissance des ormeaux (Poore, 1972; Shepherd et al., 1995; Shepherd et Avalos-Borja, 1997).

Des tests exploratoires ont été entrepris au LEMAR avec Dr. Julien Thébault, afin de réaliser des lectures sclérochronologiques. Six ormeaux de 4 ans issus de France *Haliotis* (nés en juin 2015 et sacrifiés en juillet 2019) ont été sélectionnés pour la qualité de leur coquille (absence de poches à vers et d'épiphytes). Des coupes longitudinales et transversales ont été réalisées de manière à englober toutes les stries d'arrêt de croissance visibles (c'est-à-dire en prenant en compte l'apex), afin de prendre en compte la totalité de la croissance de chaque individu. Les résultats n'ont pas permis de mettre en évidence de périodicité évidente dans la

formation de stries d'arrêt de croissance (Figure 3), comme cela est observé par exemple chez *Pecten maximus* (Chauvaud, 1998). S'il existait bien des stries de croissance visibles, leur nombre variait de 4 à 9 en fonction de l'appréciation de différents lecteurs et du positionnement de la lecture sur la coupe. Ainsi, bien qu'elle soit potentiellement prometteuse, cette technique nécessite encore des études complémentaires avant d'être opérationnelle chez l'orveau.

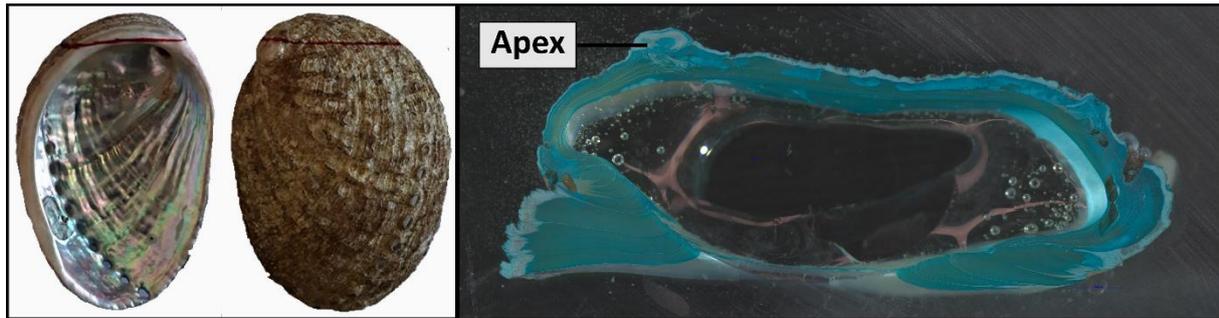


Figure 3 : Coupe fine longitudinale réalisée dans la coquille d'un individu d'élevage de *Haliotis tuberculata* âgé de 4 ans et colorée au bleu de Munveil. Le trait de coupe est représenté en rouge sur la photographie de gauche alors que l'apex de l'individu se trouve en haut à gauche de la photographie de droite.

La diversité des macroalgues et leur taux de recouvrement du substrat ne se sont pas révélés être des facteurs explicatifs de la densité en orveaux. Néanmoins, il serait intéressant de savoir quelles espèces d'algues sont consommées par les orveaux, ou du moins susceptibles de l'être. En effet, cela permettrait d'estimer des biomasses en algues comestibles par unité de surface et d'intégrer cette variable à la caractérisation de l'habitat. Roussel et al. (2020) ont mené une étude comportementale en ce sens dans laquelle des individus d'élevage de 4 ans avaient le choix de consommer sept espèces de macroalgues (3 brunes, 2 rouges et 2 vertes). Ils ont observé que la majorité des individus se nourrissaient de plusieurs espèces lorsqu'ils en avaient le choix. Il serait donc pertinent de récolter des échantillons de toutes les espèces de macroalgues présentes sur chaque site et de les soumettre au même type d'analyse.

De plus, il pourrait être envisagé d'analyser les contenus stomacaux des orveaux, ou de pratiquer des analyses isotopiques afin de mieux appréhender leur régime alimentaire (Won et al., 2011). Cependant, Marchais (2014) estime que ces deux types d'analyses ne permettent pas de discriminer clairement les espèces d'algues consommées et préconise plutôt de privilégier l'étude de la coloration des coquilles comme marqueur des espèces d'algues consommées.

Enfin, il semble nécessaire de caractériser plus précisément les paramètres environnementaux de chacun des sites étudiés. Seules deux sondes de température ont pu être acquises au cours de la thèse et être déployées à l'interface eau-sédiment au sein des champs de blocs, pendant respectivement 3 et 5 mois à l'Aber-Wrac'h et à Roscanvel (Figure 4). Il est prévu de réaliser des mesures complémentaires sur ces sites, avec l'acquisition de nouvelles sondes permettant de suivre parallèlement la pression, la salinité, la saturation en oxygène et la température sur les trois sites. Les mesures de pression permettront de reconstituer la houle et ainsi de quantifier le degré d'exposition des sites (initialement sélectionnés selon ce critère). A l'avenir, d'autres sondes pourraient également être employées pour mesurer la turbidité, la force des courants ou encore le pH de l'eau de mer. Les données ainsi acquises seraient utilisées pour calibrer des données issues des modèles environnementaux (modèles du type Mars 3D), qui se révèlent peu précis dans les environnements complexes côtiers (Lazure and Dumas, 2008). Ces nouvelles données environnementales plus complètes et précises permettraient alors de caractériser les sites en prenant en compte les variations de l'environnement sur plusieurs années (Boyé, 2018).



Figure 4 : Sonde de température installée à l'interface eau-sédiment (© Erwan Amine).

4. Diversité génétique des populations naturelles et d'élevage

La réussite de programmes d'implantation de juvéniles d'élevage dans l'environnement naturel dépend en partie du maintien durable de la diversité génétique des populations naturelles (Rhode et al., 2017). Pour assurer cela, les individus implantés doivent être porteurs d'une importante diversité génétique, tout en étant peu différenciés de leurs

homologues sauvages déjà présents sur ou à proximité des sites d'implantation (Grant et al., 2017). Dès lors, il convient d'accéder à la structure génétique des populations naturelles afin de sélectionner des géniteurs appropriés en fonction du site d'implantation visé. De plus, l'effet de l'élevage en éclosérie sur la diversité génétique des juvéniles doit être évalué (Huchette et al., 2005; Grant et al., 2017).

Seules deux études se sont intéressées à la différenciation génétique des populations de *H. t. tuberculata*, sans obtenir de structure significative à l'échelle de la Bretagne / Normandie (Van Wormhoudt et al., 2009; Roussel et Van Wormhoudt, 2017). Afin d'approfondir ces connaissances, ce chapitre a analysé la diversité génétique de dix populations sauvages distribuées en Bretagne et en Normandie. Ces populations ont été sélectionnées de manière à être représentatives de l'ensemble de l'aire de répartition de *H. tuberculata tuberculata*. En parallèle, les effets de l'élevage, et plus particulièrement du programme de sélection sur la croissance opéré depuis trois générations au sein de l'entreprise France Haliotis (pour maximiser la croissance individuelle), ont été analysés en explorant la variabilité génétique d'ormeaux issus de plusieurs cohortes appartenant à trois générations successives de ce programme de sélection.

Synthèse des principaux résultats

La diversité génétique, représentée par la richesse allélique et l'hétérozygotie, s'est révélée similaire entre l'ensemble des échantillons sauvages et d'élevage. Par ailleurs, une structure génétique significative a pu être détectée entre les populations naturelles du nord (c'est à dire localisées au-dessus de Saint-Quay-Portrieux), et celles du sud de la zone géographique étudiée (c'est à dire localisées du nord de Guissény à Locmariaquer). Cette différenciation génétique entre les populations du nord et du sud de l'aire de répartition de *H. tuberculata tuberculata* pourrait être due à la présence du front thermique de Ouessant, qui constituerait une barrière forte à la dispersion larvaire entre le nord et le sud, comme proposé chez la coquille Saint-Jacques *Pecten maximus* (Handal, 2019) ainsi que pour d'autres invertébrés benthopélagiques (Ayata et al., 2010).

De plus les échantillons d'éclosérie sont apparus fortement différenciés des populations sauvages, suggérant une forte divergence des fréquences alléliques. Ce phénomène, régulièrement observé en éclosérie (Evans et al., 2004; Lallias et al., 2010; Rhode

et al., 2012; Morvezen et al., 2016), reflète une dérive génétique intense induite par une taille efficace limitée ainsi qu'une variance du succès reproducteur entre les géniteurs (Laikre et al., 2010). Néanmoins, la différenciation génétique entre populations sauvages et ormeaux d'écloserie est apparue beaucoup plus faible lorsque les échantillons d'écloserie ont été regroupés par génération, ou regroupés en un seul groupe.

Perspectives

Les résultats obtenus à travers l'analyse de génétique des populations ont fourni des informations essentielles pour guider l'implantation d'ormeaux d'écloserie dans le milieu naturel. Tout d'abord, la diversité génétique élevée relevée pour les échantillons d'écloserie suggère que les pratiques adoptées à France Haliotis sont tout à fait appropriées pour éviter une érosion de la variabilité génétique chez les cohortes produites en écloserie. Toutefois, il est possible que les niveaux de diversité génétique observés soient affectés par un biais d'identification des marqueurs SNP employés. En effet, étant donné que les SNPs utilisés ont été développés initialement dans le but d'être suffisamment informatifs pour réaliser des analyses de parenté au sein du stock d'écloserie (Harney et al., 2018), il est possible que ces marqueurs conduisent à une surestimation de la diversité génétique dans l'écloserie (Lachance et Tishkoff, 2013; Malomane et al., 2018). Par conséquent, les forts niveaux de diversité génétique estimés à France Haliotis devront être confirmés à l'aide d'un plus grand nombre de marqueurs. En particulier, une approche de génomique telle que la méthode RADseq (Restriction Site Associated DNA sequencing ; Baird et al., 2008; Andrews et al., 2016), serait particulièrement appropriée pour génotyper simultanément plusieurs milliers de SNPs distribués aléatoirement dans le génome, afin de comparer la diversité génétique entre populations naturelles et d'écloserie.

D'autre part, la structure génétique mise en évidence entre les populations du nord et du sud de l'aire de répartition de l'ormeau en Bretagne et Normandie implique que les géniteurs utilisés en écloserie devront être issus de la même région que celle où la réimplantation est envisagée, de manière à ne pas altérer le patrimoine génétique des populations naturelles. La structure génétique de ces populations naturelles semble fortement liée à l'existence du front saisonnier de Ouessant. Néanmoins, chez d'autres invertébrés marins comme la coquille Saint-Jacques, une structure spatiale plus fine a pu être observée avec une forte différenciation entre la population de la Baie de Morlaix et celles de

la Mer d'Iroise et du Golfe Normano-Breton (Handal, 2019). Par conséquent, les résultats obtenus ici pourraient être complétés afin d'analyser plus finement la connectivité des populations naturelles d'ormeaux en Bretagne et Normandie. Ainsi, des échantillons d'ormeaux pourraient notamment être prélevés au niveau de la Baie de Morlaix et dans le Finistère sud. De plus, développer ou adapter un modèle de dispersion larvaire en tenant compte de la faible durée de vie larvaire de l'ormeau permettrait de confirmer que le front de Ouessant constitue effectivement une barrière hydro-climatique à la connectivité des populations. L'usage combiné des outils génétique et de la modélisation de dispersion larvaire constitue une approche pertinente pour explorer les patrons de structure entre populations, et s'est avérée particulièrement utile pour explorer la connectivité des populations de coquille Saint-Jacques en mer d'Iroise (Handal, 2019).

Les données génétiques présentées ici n'ont pas permis d'explorer une possible divergence adaptative entre les populations naturelles. Toutefois, il sera indispensable de rechercher l'existence possible d'une structure adaptative des populations naturelles de *H. tuberculata*, afin de ne pas risquer d'éroder leur potentiel adaptatif à travers l'implantation de juvéniles non adaptés (Chilcote et al., 2011). Cette question semble d'autant plus cruciale qu'une différenciation adaptative a été mise en évidence à des échelles régionales (centaine de km) mais aussi locales (quelques centaines de mètres) chez une espèce d'ormeau Australienne, *H. rubra* (Miller et al., 2019). Une telle analyse pourrait être conduite chez *H. tuberculata* en combinant le génotypage de plusieurs milliers de SNPs répartis dans le génome par une approche RADseq avec la caractérisation des paramètres environnementaux à fine échelle de chacun des sites étudiés dans l'axe 3 de la thèse (Aber Wrac'h, Ile Molène et Rade de Brest).

L'adaptation locale des populations peut se refléter à travers des différences phénotypiques. Ainsi, nous avons entrepris de comparer les phénotypes des ormeaux issus de trois sites aux conditions environnementales supposées contrastées (Aber Wrac'h, Ile Molène et Roscanvel). Au total, 205 ormeaux ont été disséqués, et les biomasses des différentes structures dures (coquille) et molles (muscle, gonade, système digestif et autres) les constituant ont été mesurées. Ces analyses n'ont pas révélé de différence significative entre les ormeaux de ces trois sites et n'ont donc pas été intégrées à ce manuscrit de thèse (Figure

5). Il est à noter que de la même manière, les données génétiques n'ont montré aucune différenciation entre ces trois sites.

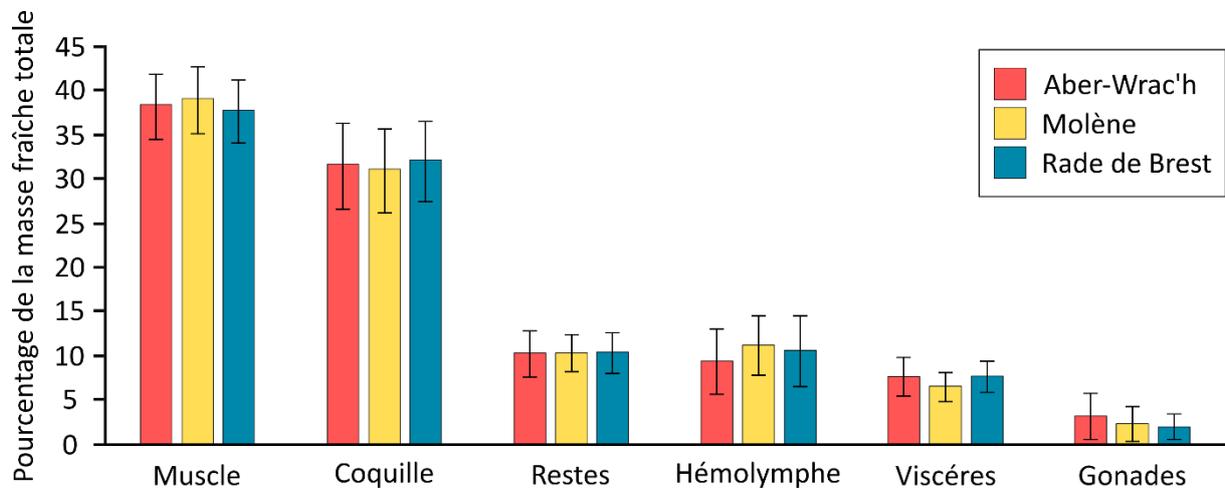


Figure 5 : Résultats des dissections réalisées sur des ormeaux sauvages issus de l'Aber-Wrac'h (n = 66), de Molène (n = 67) et de la rade de Brest (n = 72) (moyennes ± EC).

Cependant, la différenciation phénotypique des populations dans leur environnement naturel est non seulement façonnée par la différenciation génétique (adaptative ou non) des populations, mais aussi par la plasticité phénotypique individuelle induite par la variabilité environnementale. Par conséquent, il est particulièrement compliqué d'estimer la valeur adaptative de la variabilité phénotypique observée *in natura* au sein des populations naturelles. Une des meilleures approches pour explorer l'adaptation locale possible des populations d'ormeaux serait de comparer la variabilité phénotypique des populations à travers une expérience de jardin commun en environnement contrôlé. Une telle approche serait très pertinente pour compléter l'approche proposée précédemment afin de détecter des signatures génomiques de divergence adaptatives entre populations naturelles.

5. Conclusion générale

L'objectif de ce travail de thèse était d'apporter des connaissances fondamentales pour l'élaboration de protocoles d'implantation de juvéniles d'ormeaux d'élevage, dans le milieu naturel. Des interrogations portent sur la capacité de ces juvéniles à survivre et à assurer la pérennité des populations sauvages, sans toutefois influencer le potentiel adaptatif de celles-ci sur le long terme. Les quatre axes de recherche de cette thèse offrent une approche pluridisciplinaire indispensable et complémentaire pour répondre à ces problématiques. Un schéma conceptuel simplifié des éléments à considérer avant toute mise en place de programmes d'implantation est présenté dans la figure 6.

5.1. Sélection des géniteurs

Tout programme de repeuplement doit débuter par la sélection des géniteurs qui seront utilisés pour produire les individus à planter. Le chapitre quatre a démontré que l'utilisation de géniteurs sauvages est à privilégier car la différenciation génétique entre les populations sauvages et d'élevage est forte. En outre, il convient de s'assurer que la *population cible* du programme de repeuplement ou de soutien de stocks soit peu différenciée génétiquement de la *population source* dont seront issus les géniteurs. Une forte structure génétique a été identifiée de part et d'autre du front de Ouessant. Par exemple, cela souligne la nécessité de prélever des géniteurs dans des *populations sources* du sud pour une implantation de leurs descendants dans une *population cible* localisée au sud.

5.2. Effets des conditions d'élevage

Pour favoriser leur survie en milieu naturel, les processus d'élevage doivent limiter les effets du processus de domestication sur les juvéniles, tout en leur assurant une forte diversité génétique, comparable à celle de la *population cible*. Or, le premier chapitre a démontré que le processus de domestication initié depuis cinq générations chez France Haliotis n'entraîne pas de modifications significatives dans les comportements anti-prédateurs, le rythme d'activité et les capacités de survie en mésocosmes des juvéniles. De plus, le chapitre quatre a mis en évidence que le protocole de reproduction établi par France Haliotis (croisement de 20 ♀ et 20 ♂ par ponte) assure une forte diversité génétique aux descendants. Les résultats des chapitres un et quatre sont rassurants quant à la capacité à fournir des juvéniles possédant des réponses comportementales adéquates et ne pouvant pas altérer la diversité génétique des populations sauvages ciblées en cas de reproduction avec leurs membres.

5.3. Préparation en amont de l'implantation

En amont de l'implantation, il est nécessaire d'identifier si les juvéniles d'ormeaux sont porteurs d'agents pathogènes pouvant affecter les populations naturelles, ainsi que potentiellement d'autres espèces de mollusques (Lorenzen et al., 2012). Les agents pathogènes à déclaration obligatoire tels que l'herpès virus de l'ormeau, ainsi que des agents pathogènes de type *Haplosporidium* pouvant infecter l'ormeau et d'autres coquillages devront être recherchés par biologie moléculaire et histologie avant de relâcher les animaux issus d'écloserie dans le milieu naturel (Travers, communication personnelle).

Les juvéniles doivent être implantés à une taille et une densité permettant d'optimiser leurs chances de survie (impacts potentiels sur la vulnérabilité et l'accès aux ressources alimentaires notamment), ce qui n'a pas été testé dans cette thèse mais a fait l'objet de plusieurs travaux chez d'autres espèces d'ormeaux (Roberts et al., 2007; Okuzawa et al., 2008; Melville-Smith et al., 2013; Hofmeister et al., 2018). De plus, des travaux sont actuellement en cours en laboratoire pour *H. tuberculata*, afin d'évaluer la taille optimale d'implantation.

Avant d'être implantés dans le milieu naturel, les juvéniles sont triés puis préparés pour le transport vers les sites d'implantation. Le chapitre deux a démontré l'importance de limiter au maximum le stress, soit dû aux manipulations ou à l'exondation. En effet, un stress trop important pourrait limiter l'efficacité des réponses comportementales des juvéniles, voire altérer leurs chances de survie, comme l'a souligné Clavier (1987). Dès lors, il sera nécessaire de concevoir un protocole assurant un stress minimal aux ormeaux, en étant particulièrement attentif aux conditions de transport (saison, durée et température) (Lebata-Ramos et al., 2013).

De plus, étant donné que les prédateurs ont causé des taux de mortalité substantiels dans les expériences en mésocosmes des chapitres un et deux, l'installation des ormeaux dans des cages de protection pour les premiers jours /semaines de l'implantation est à envisager (structures conçues pour empêcher les prédateurs d'y entrer et permettre aux ormeaux d'en sortir) (Schiel et Welden, 1987). En effet, si de nombreux prédateurs sont présents sur les sites d'implantation, de telles structures peuvent permettre aux ormeaux d'en être protégés, le temps notamment de récupérer du stress lié au transport (Aguirre et McNaught, 2013; Hansen et Gosselin, 2013).

5.4. Implantation dans le milieu naturel

Le chapitre trois a mis en évidence que plusieurs facteurs environnementaux sont déterminants dans la capacité d'accueil de l'environnement. Ainsi, quand cela est possible, les sites d'implantation doivent être sélectionnés sur la base de leurs caractéristiques environnementales.

Ainsi, dans un habitat de type champs de blocs, la présence de blocs de tailles variées et agencés entre eux par une architecture complexe favorise la capacité d'accueil en ormeaux. De plus, les algues encroûtantes et les macroalgues présentes doivent permettre d'assurer la

nutrition de tous les individus implantés. Dès lors, accéder en amont à ces caractéristiques environnementales pourra permettre d'adapter par exemple le nombre d'individus implantés. En revanche, nous n'avons pas été en mesure d'analyser ni les variables biotiques relevées, ni les effets de la concentration en prédateurs sur les densités d'ormeaux (Greenwell et al., 2019 a et b). Néanmoins, plusieurs études estiment qu'il peut être intéressant d'éliminer tout ou partie des prédateurs dans les jours précédant l'implantation (Lebata-Ramos et al., 2013; Melville-Smith et al., 2013), ce qui pourrait être envisager dans de futurs programmes d'implantation de *H. tuberculata*. Ceci, couplé à l'installation de cages de protection pourrait permettre de limiter les probabilités de rencontres immédiates avec des prédateurs.

Le succès de programmes de repeuplement / soutien de stocks doit être évalué dans les jours, les mois et les années qui suivent l'implantation. Pour ne pas biaiser les résultats à long terme, portant notamment sur l'intégration des individus introduits au stock de reproducteurs, il serait nécessaire de fermer temporairement tous les sites expérimentaux à la pêche (récréative ou professionnelle). De nombreux protocoles d'évaluation de la réussite de programmes d'implantation ont été développés pour les espèces du genre *Haliotis* (Schiel, 1993; De Waal et al., 2003; Griffiths, 2006). Néanmoins, il reste difficile d'estimer avec précision les taux de mortalité des ormeaux implantés. Le protocole d'implantation qui sera élaboré pour *H. tuberculata* devra intégrer toutes ces difficultés et permettre un suivi simplifié des taux de mortalité.

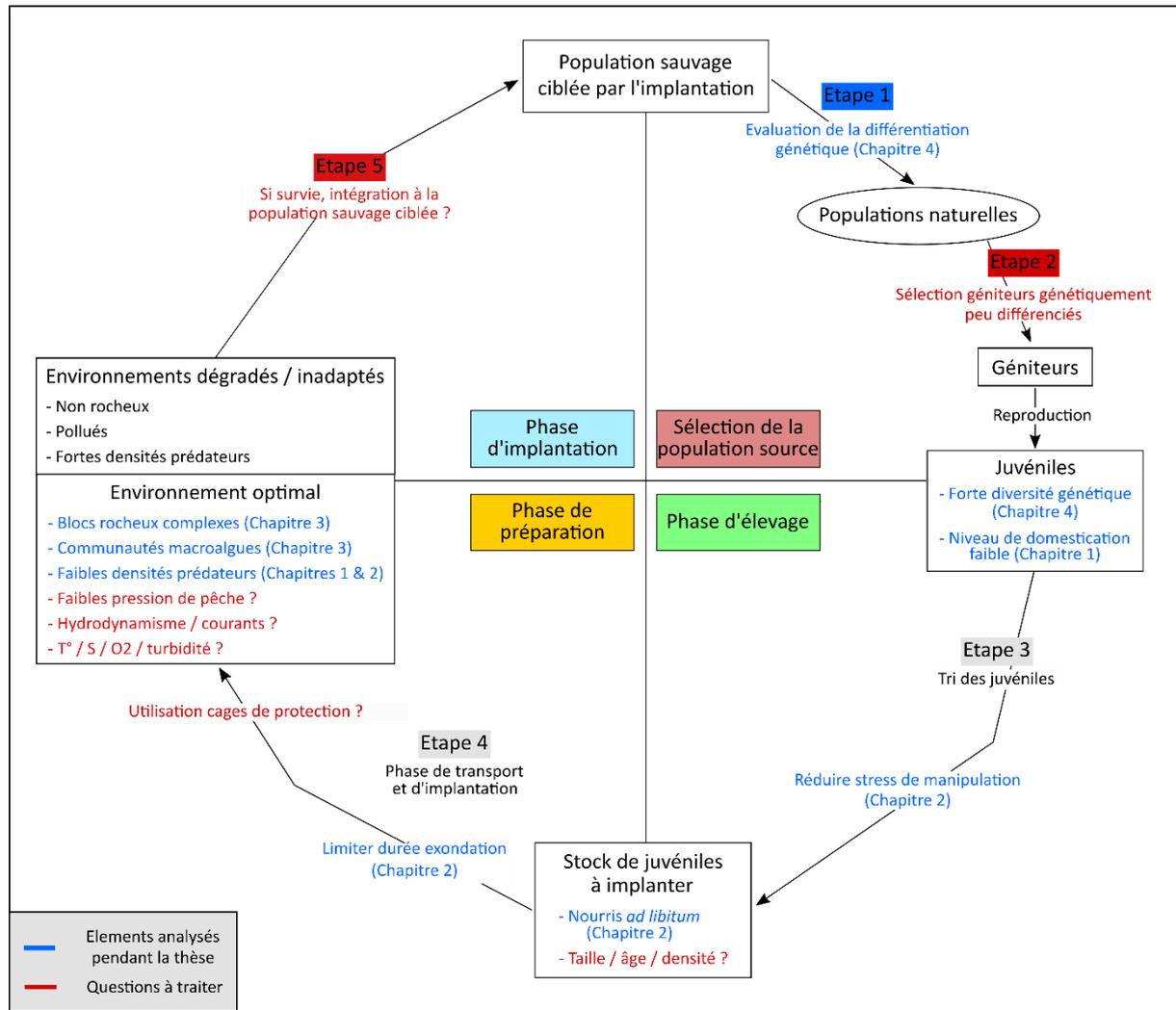


Figure 6 : Schéma conceptuel des étapes critiques d'un programme de repeuplement pour l'ormeau européen *Haliotis tuberculata*.



BIBLIOGRAPHIQUES

– A –

- Aguilera, M.A., Weiß, M., Thiel, M., 2019. Similarity in predator-specific anti-predator behavior in ecologically distinct limpet species, *Scurria viridula* (Lottiidae) and *Fissurella latimarginata* (Fissurellidae). *Marine biology*, 166 (4), 41.
- Aguirre, J.D., McNaught, D.C., 2011. Habitat modification affects recruitment of abalone in central New Zealand. *Marine biology*. 158 (3), 505-513.
- Aguirre, J.D., McNaught, D.C., 2012. Ontogenetic variability in the habitat associations of *Haliotis iris* in central New Zealand. *Marine and freshwater research*, 63 (9), 751-761.
- Aguirre, J.D., McNaught, D.C., 2013. Habitat complexity mediates predation of juvenile abalone by starfish. *Marine Ecology Progress Series*. 487, 101-111.
- Allen, V.J., Marsden, I.D., Ragg, N.L., Giese, S., 2006. The effects of tactile stimulants on feeding, growth, behaviour, and meat quality of cultured Blackfoot abalone, *Haliotis iris*. *Aquaculture*, 257 (1-4). 294-308.
- Andrews, K.R., Good, J.M., Miller, M.R., Luikart, G., Hohenlohe, P.A., 2016. Harnessing the power of RADseq for ecological and evolutionary genomics. *Nature Reviews Genetics*. 17 (2), 81-92.
- Araki, H., Cooper, B., Blouin, M.S., 2007. Genetic effects of captive breeding cause a rapid, cumulative fitness decline in the wild. *Science*. 318 (5847), 100-103.
- Auzoux-Bordenave, S., Badou, A., Gaume, B., Berland, S., Helléouet, M.N., Milet, C., Huchette, S., 2010. Ultrastructure, chemistry and mineralogy of the growing shell of the European abalone *Haliotis tuberculata*. *Journal of Structural biology*. 171 (3), 277-290.
- Ayata, S.D., Lazure, P., Thiébaud, É., 2010. How does the connectivity between populations mediate range limits of marine invertebrates? A case study of larval dispersal between the Bay of Biscay and the English Channel (North-East Atlantic). *Progress in Oceanography*. 87 (1-4), 18-36.
- Azevedo, C., Casal, G., Montes, J., 2008. Ultrastructural developmental cycle of *Haplosporidium montforti* (Phylum Haplosporidia) in its farmed abalone host, *Haliotis tuberculata* (Gastropoda). *Journal of Parasitology*. 94 (1), 137-142.

– B –

- Baird, N.A., Etter, P.D., Atwood, T.S., Currey, M.C., Shiver, A.L., Lewis, Z.A., Selker, E.U., Cresko, W.A., Johnson, E.A., 2008. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS one*. 3 (10), e3376.
- Baldwin, J., Wells, R.M.G., Low, M., Ryder, J.M., 1992. Tauropine and D-Lactate as Metabolic Stress Indicators during Transport and Storage of Live Paua, (New Zealand Abalone) (*Haliotis iris*). *Journal of food science*, 57 (2). 280-282.
- Bancalà, F., 2009. Function of mucus secretion by lamellose ormer, *Haliotis tuberculata lamellosa*, in response to starfish predation. *Animal Behaviour*, 78 (5), 1189-1194.
- Barange, M., Merino, G., Blanchard, J. L., Scholtens, J., Harle, J., Allison, E.H., Allen, J.I., Holt, J., Jennings, S., 2014. Impacts of climate change on marine ecosystem production in societies dependent on fisheries. *Nature Climate Change*. 4 (3), 211-216.
- Basuyaux, O., 1997. Etude et modélisation des paramètres physico-chimiques sur la croissance en élevage de l'ormeau (*Haliotis tuberculata*) en circuit semi-fermé (Doctoral dissertation, Thèse de 3ième cycle de l'Université de Caen, France).
- Basuyaux, O., Blin, J.L., Costil, K., Richard, O., Lebel, J.M., Serpentine, A., 2018. Assessing the impacts of several algae-based diets on cultured European abalone (*Haliotis tuberculata*). *Aquatic Living Resources*. 31, 28.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., 2012. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4 classes.
- Belhsen, O., 2000. Etude cytologique de la gametogenèse, du système nerveux central et du cycle de reproduction de l'ormeau européen *Haliotis tuberculata* (L.) (Doctoral dissertation, Caen).
- Belkhir, K., 2004. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix.htm>.
- Bell, E.C., Denny, M.W., 1994. Quantifying "wave exposure": a simple device for recording maximum velocity and results of its use at several field sites. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 181 (1), 9-29.

- Bell, J.D., Leber, K.M., Blankenship, H.L., Loneragan, N.R., Masuda, R., 2008. A new era for restocking, stock enhancement and sea ranching of coastal fisheries resources. *Reviews in fisheries science*. 16 (1-3), 1-9.
- Berben, L., Sereika, S.M., & Engberg, S., 2012. Effect size estimation: methods and examples. *International journal of nursing studies*, 49 (8), 1039-1047.
- Bester-van der Merwe, A.E., Roodt-Wilding, R., Volckaert, F.A., D'Amato, M.E., 2011. Historical isolation and hydrodynamically constrained gene flow in declining populations of the South-African abalone, *Haliotis midae*. *Conservation Genetics*. 12 (2), 543-555.
- Bilbao, A., Uriarte, I., del Pino Viera, M., Sosa, B., Fernández-Palacios, H., Hernández-Cruz, C.M., 2012. Effect of macroalgae protein levels on some reproductive aspects and physiological parameters for the abalone, *haliotis tuberculata coccinea* (Reeve 1846). *Journal of the World Aquaculture Society*. 43 (6), 764-777.
- Billy, S., Peronnet, I., Salaun, M., 2003. Estimation du stock naturel d'ormeaux du Golfe du Morbihan.
- Blankenship, H.L., Leber, K.M., 1995. A responsible approach to marine stock enhancement. In *American Fisheries Society Symposium*. 15 (167475), 167-175.
- Boudry, P., Collet, B., Cornette, F., Hervouet, V., Bonhomme, F., 2002. High variance in reproductive success of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, Thunberg) revealed by microsatellite-based parentage analysis of multifactorial crosses. *Aquaculture*. 204 (3-4), 283-296.
- Boyé, A., 2018. Diversité taxinomique et fonctionnelle des habitats benthiques dans l'espace et dans le temps: une perspective régionale et décennale (Doctoral dissertation, Université de Bretagne occidentale-Brest; Université de Montréal).
- Bullock, T.H., 1953. Predator recognition and escape responses of some intertidal gastropods in presence of starfish. *Behaviour*. 130-140.
- Buss, J.J., Jones, D.A., Lumsden, A., Harris, J.O., Bansemmer, M.S., Stone, D.A.J., 2015. Restricting feed ration has more effect than diet type on the feeding behaviour of greenlip abalone *Haliotis laevis*. *Marine and freshwater behaviour and physiology*. 48 (1), 51-70.
- Brokordt, K., Farías, W., Lhorente, J.P., Winkler, F., 2012. Heritability and genetic correlations of escape behaviours in juvenile scallop *Argopecten purpuratus*. *Animal Behaviour*, 84 (2), 479-484.

Bullock, T.H., 1953. Predator recognition and escape responses of some intertidal gastropods in presence of starfish. *Behaviour*, 5 (1), 130-140.

Burel, T., 2020. Effet de l'hydrodynamisme sur la structure des communautés macroalgales et sur les interactions macroflore/macrofaune en zone intertidale (Doctoral dissertation, Brest).

Buss, J.J., Jones, D.A., Lumsden, A., Harris, J.O., Bansemer, M.S., Stone, D.A.J., 2015. Restricting feed ration has more effect than diet type on the feeding behaviour of greenlip abalone *Haliotis laevigata*. *Marine and freshwater behaviour and physiology*. 48 (1), 51-70.

– C –

Cardinaud, M., 2013. Étude multifactorielle de la vibriose chez l'ormeau européen *Haliotis tuberculata*: bases génomiques et physiologiques de la survie aux mortalités estivales chez l'ormeau européen *Haliotis tuberculata* (Doctoral dissertation, Brest).

Carefoot, T.H., Qian, P.Y., Taylor, B.E., West, T., Osborne, J., 1993. Effect of starvation on energy reserves and metabolism in the Northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*. *Aquaculture*. 118 (3-4) 315-325.

Carreón-Palau, L., Guzmán-del Próo, S.A., Belmar-Pérez, J., Carrillo-Laguna, J., Herrera-Fragoso, R., 2003. Microhabitat and associated biota of abalone juveniles, *Haliotis fulgens* and *H. corrugata*, in Bahía Tortugas, Baja California Sur, Mexico. *Ciencias marinas*. 29 (3), 325-341.

Carson, H.S., Morin, D.J., Bouma, J.V., Ulrich, M., Sizemore, R., 2019. The survival of hatchery-origin pinto abalone *Haliotis kamtschatkana* released into Washington waters. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 29 (3), 424-441.

Chauvaud, L. (1998). La coquille Saint-Jacques en Rade de Brest: un modèle biologique d'étude des réponses de la faune benthique aux fluctuations de l'environnement (Doctoral dissertation, Brest).

Chauvaud, P., Day, R., Roussel, S., 2021. No evident effect of domestication on the anti-predator behaviour of European abalone (*Haliotis tuberculata*): implications for stock enhancement programs. *Applied Animal Behaviour Science*. 105470.

- Chilcote, M.W., Goodson, K.W., Falcy, M.R., 2011. Reduced recruitment performance in natural populations of anadromous salmonids associated with hatchery-reared fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 68 (3), 511-522.
- Christie, M.R., Marine, M.L., French, R.A., Blouin, M.S., 2012. Genetic adaptation to captivity can occur in a single generation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109 (1), 238-242.
- Christie, M. R., Ford, M. J., Blouin, M.S., 2014. On the reproductive success of early-generation hatchery fish in the wild. *Evolutionary applications*. 7 (8), 883-896.
- Clavier, J., Richard, O., 1984. Etude expérimentale du déplacement de l'ormeau (*Haliotis tuberculata*) dans le milieu naturel. *Revue des travaux de l'Institut des pêches maritimes*. 46 (4), 315-326.
- Clavier, J., Richard, O., 1986. Growth of juvenile *Haliotis tuberculata* (Mollusca: Gastropoda) in their natural environment. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 66 (2), 497-503.
- Clavier, J., 1987. Contribution à la mise en valeur des populations d'ormeaux (*Haliotis tuberculata* L.). Doctoral dissertation, Paris 6.
- Clavier, J., Chardy, P., 1989. Investigation into the ecology of the ormer (*Haliotis tuberculata* L.), factors influencing spatial distribution. *Aquatic Living Resources*, 2 (4), 191-197.
- Clavier, J., 1992. The ormer (*Haliotis tuberculata*) fishery of France and the Channel Islands.
- Cochard, J.C., 1980. Recherches sur les facteurs déterminant la sexualité et la reproduction chez *Haliotis tuberculata* L (Doctoral dissertation, Université de Bretagne Occidentale).
- Cochard, J.C., 1982. La croissance de l'ormeau *Haliotis tuberculata* L. en rade de Brest. *Haliotis*. 12, 61-9.
- Cohen, P., 1988. Review lecture: protein phosphorylation and hormone action. *Proceedings of the Royal society of London. Series B. Biological sciences*, 234 (1275), 115-144.
- Cohen, J.E., Small, C., Mellinger, A., Gallup, J., Sachs, J., 1997. Estimates of coastal population. *Sciences*. 278 (5341), 1209-1213.
- Cook, P.A., Gordon, H.R., 2010. World abalone supply, markets, and pricing. *Journal of shellfish research*, 29 (3). 569-571.

- Cook, P.A., 2014. The worldwide abalone industry. *Modern Economy*. 5 (13), 1181.
- Cook, P.A., 2016. Recent trends in worldwide abalone production. *Journal of Shellfish Research*. 35 (3), 581-584.
- Corbeil, S., Williams, L.M., McColl, K.A., Crane, M.S. J., 2016. Australian abalone (*Haliotis laevis*, *H. rubra* and *H. conicopora*) are susceptible to infection by multiple abalone herpesvirus genotypes. *Diseases of Aquatic Organisms*, 119 (2), 101-106.
- Costello, M.J., 2009. Distinguishing marine habitat classification concepts for ecological data management. *Marine ecology progress series*. 397, 253-268.
- Currie, K.L., Davidson, H., Bansemer, M.S., Harris, J.O., Stone, D.A., 2016. Ventral videographic assessment of the feeding behavior of juvenile greenlip [*Haliotis laevis* (Donovan, 1808)] and hybrid (*H. laevis* × *Haliotis rubra*) abalone in response to dietary and temperature manipulation. *Journal of Shellfish Research*. 35 (3), 641-651.

– D –

- Davis, G.E., 1995. Recruitment of juvenile abalone (*Haliotis spp.*) measured in artificial habitats. *Marine and Freshwater Research*. 46 (3), 549-554.
- Davis, G.E., Haaker, P.L., Richards, D.V., 1996. Status and trends of white abalone at the California Channel Islands. *Transactions of the American Fisheries Society*. 125 (1), 42-48.
- Day, R., Dowell, A., Sant, G., Klemke, J., Shaw, C., 1995. Patchy predation: Foraging behaviour of *Coscinasterias calamaria* and escape responses of *Haliotis rubra*. *Marine & Freshwater Behaviour & Physiology*, 26 (1), 11-33.
- DeFreitas, B.A., 2005. Manipulations of adult density and juvenile habitat quality in Northern Abalone stock restoration. Dr. Diss, Dept. of Biological Sciences-Simon Fraser University.
- De Montaudouin, X., Sauriau, P.G., 2000. Contribution to a synopsis of marine species richness in the Pertuis Charentais Sea with new insights in soft-bottom macrofauna of the Marennes-Oléron Bay. *Cahiers de Biologie marine*. 41 (2), 181-222.
- De Waal, S.W.P., Branch, G.M., Navarro, R., 2003. Interpreting evidence of dispersal by *Haliotis midae* juveniles seeded in the wild. *Aquaculture*, 221 (1-4), 299-310.

- De Waal, S.W.P., 2005. Boulders or urchins? Selecting seeding sites for juvenile *Haliotis midae* along the Namaqualand coast of South Africa. *African Journal of Marine Science*, 27 (2), 501-504.
- De Waal, S.W.P., Balkhair, M., Al-Mashikhi, A., Khoom, S., 2012. Habitat preferences of juvenile abalone (*Haliotis mariae* Wood, 1828) along the Dhofar coast of Oman and implications for conservation. *Journal of Agricultural and Marine Sciences [JAMS]*. 17, 45-52.
- Derrien-Courtel, S., 2008. L'étude des peuplements subtidaux rocheux (flore et faune) du littoral breton permet-elle de contribuer à l'évaluation de la qualité écologique du littoral et d'en mesurer les changements dans le temps ? (Doctoral dissertation, Paris, Muséum national d'histoire naturelle).
- Diaz, R.J., Solan, M., Valente, R.M., 2004. A review of approaches for classifying benthic habitats and evaluating habitat quality. *Journal of environmental management*. 73 (3), 165-181.
- Dixon, C.D., Day, R.W., Huchette, S.M., Shepherd, S.A., 2006. Successful seeding of hatchery-produced juvenile greenlip abalone to restore wild stocks. *Fisheries Research*, 78 (2-3), 179-185.
- Donovan, D., Carefoot, T., 1997. Locomotion in the abalone *Haliotis kamtschatkana*: pedal morphology and cost of transport. *The Journal of experimental biology*. 200 (7), 1145-1153.
- Donovan, D., Baldwin, J., Carefoot, T., 1999. The contribution of anaerobic energy to gastropod crawling and a re-estimation of minimum cost of transport in the abalone, *Haliotis kamtschatkana* (Jonas). *Journal of experimental marine biology and ecology*. 235 (2), 273-284.
- Dubreuil, J., 2009. Prospection de sites en vue de l'évaluation du stock d'ormeaux. Rapport de l'entreprise In Vivo.
- Durazo-Beltrán, E., Viana, M.T., D'Abramo, L.R., Toro-Vazquez, J.F., 2004. Effects of starvation and dietary lipid on the lipid and fatty acid composition of muscle tissue of juvenile green abalone (*Haliotis fulgens*). *Aquaculture*. 238 (1-4), 329-341.

– E –

- El Balaa, R., Blouin-Demers, G., 2011. Anti-predatory behaviour of wild-caught vs captive-bred freshwater angelfish, *Pterophyllum scalare*. *Journal of Applied Ichthyology*, 27 (4), 1052-1056.
- Erauskin-Extramiana, M., Alvarez, P., Arrizabalaga, H., Ibaibarriaga, L., Uriarte, A., Cotano, U., Santos, M., Ferrer, L., Cabré, A., Irigoien, X., Chust, G., 2019. Historical trends and future distribution of anchovy spawning in the Bay of Biscay. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*. 159, 169-182.
- Evans, B., Bartlett, J., Sweijd, N., Cook, P., Elliott, N.G., 2004. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery produced abalone in Australia (*Haliotis rubra*) and South Africa (*Haliotis midae*). *Aquaculture*. 233 (1-4), 109-127.

– F –

- Faideau, F., 1921. Les Mollusques comestibles des Côtes de l'Aunis...
- Feder, H.M., 1963. Gastropod defensive responses and their effectiveness in reducing predation by starfishes. *Ecology*, 44 (3), 505-512.
- Flassch, J.P., Aeline, C., 1984. Production de jeunes ormeaux à la station expérimentale d'Argenton.
- Fleming, L.E., Broad, K., Clement, A., Dewailly, E., Elmir, S., Knap, A., Pomponi, S.A., Smith, S., Solo Gabriele, H., Walsh, P., 2006. Oceans and human health: emerging public health risks in the marine environment. *Marine pollution bulletin*. 53 (10-12), 545-560.
- Forster, G.R., 1962. Observations on the ormer population of Guernsey. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 42 (3), 493-498.
- Forster, G.R., 1967. The growth of *Haliotis tuberculata*: results of tagging experiments in Guernsey 1963–65. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 47 (2), 287-300.

Forster, G.R., Potts, G.W., Swinfen, R., 1982. Changes in the ormer populations of Guernsey and Jersey. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 62 (3), 717-727.

Frankham, R., Ballou, J.D., Dudash, M.R., Eldridge, M.D., Fenster, C.B., Lacy, R.C., Mendelson, J.R., Porton, I.J., Ralls, K., Ryder, O.A., 2012. Implications of different species concepts for conserving biodiversity. *Biological Conservation*. 153, 25-31.

– G –

Gäde, G.E.R.D., 1988. Energy metabolism during anoxia and recovery in shell adductor and foot muscle of the gastropod mollusc *Haliotis lamellosa*: formation of the novel anaerobic end product tauropine. *The Biological Bulletin*. 175 (1), 122-131.

Gaffney, P.M., 2006. The role of genetics in shellfish restoration. *Aquatic Living Resources*. 19 (3), 277-282.

Gaillard, J.M., 1958. *Haliotis tuberculata* Linné. Systématique et distribution. *Bull. Lab. Mar. Dinard*. 44, 7-11.

Galland-Irmouli, A.V., Fleurence, J., Lamghari, R., Luçon, M., Rouxel, C., Barbaroux, O., Bronowicki, J.P., Villaume, C., Guéant, J.L., 1999. Nutritional value of proteins from edible seaweed *Palmaria palmata* (Dulse). *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 10 (6), 353-359.

Gao, X., Zhang, M., Zheng, J., Li, X., Chi, L., Song, C., Liu, Y., 2016. Effect of LED light quality on the phototaxis and locomotion behaviour of *Haliotis discus hannai*. *Aquaculture research*, 47 (11), 3376-3389.

Gaty, G., Wilson, J.H., 1986. Effect of body size, starvation, temperature and oxygen tension on the oxygen consumption of hatchery-reared ormers *Haliotis tuberculata* L. *Aquaculture*. 56 (3-4), 229-237.

Gautier, A., 1990. *La domestication: et l'homme créa ses animaux*. Éd. Errance.

Geiger, D. L., Owen, B., 2012. *Abalone: world-wide Haliotidae*. ConchBooks.

Girard, A., 1972. La reproduction de l'Ormeau *Haliotis tuberculata* L. *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*. 36 (2), 163-184.

Goldstein, D.S., Kopin, I.J., 2007. Evolution of concepts of stress. *Stress*. 10 (2), 109-120.

- Goodsell, P.J., Underwood, A.J., Chapman, M.G., Heasman, M.P., 2006. Seeding small numbers of cultured black-lip abalone (*Haliotis rubra* Leach) to match natural densities of wild populations. *Marine and Freshwater Research*, 57 (7), 747-756.
- Goudet, J., 2005. Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes*. 5 (1), 184-186.
- Graham, M.H., Harrold, C., Lisin, S., Light, K., Watanabe, J. M., Foster, M.S., 1997. Population dynamics of giant kelp *Macrocystis pyrifera* along a wave exposure gradient. *Marine Ecology Progress Series*. 148, 269-279.
- Grant, W.S., Jasper, J., Bekkevold, D., Adkison, M., 2017. Responsible genetic approach to stock restoration, sea ranching and stock enhancement of marine fishes and invertebrates. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 27 (3), 615-649.
- Greenwell, C.N., Loneragan, N.R., Tweedley, J.R., Wall, M., 2019 (a). Diet and trophic role of octopus on an abalone sea ranch. *Fisheries management and ecology*. 26 (6), 638-649.
- Greenwell, C.N., Loneragan, N.R., Admiraal, R., Tweedley, J.R., Wall, M., 2019 (b). Octopus as predators of abalone on a sea ranch. *Fisheries management and ecology*. 26 (2), 108-118.
- Griffiths, A.M., 2006. Investigations into mortality in juvenile *Haliotis kamtschatkana* (northern abalone) and factors that affect outplanting (Doctoral dissertation, Victoria).
- Griffiths, A.M., Gosselin, L.A., 2008. Ontogenetic shift in susceptibility to predators in juvenile northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 360 (2), 85-93.
- Gruenthal, K.M., Acheson, L.K., Burton, R.S., 2007. Genetic structure of natural populations of California red abalone (*Haliotis rufescens*) using multiple genetic markers. *Marine Biology*. 152 (6), 1237-1248.
- Gutierrez-Gonzalez, J.L., Perez-Enriquez, R., 2005. A genetic evaluation of stock enhancement of blue abalone *Haliotis fulgens* in Baja California, Mexico. *Aquaculture*. 247 (1-4), 233-242.

– H –

- Hamasaki, K., Kitada, S., 2008. The enhancement of abalone stocks: lessons from Japanese case studies. *Fish and Fisheries*, 9 (3), 243-260.

- Handal, W., 2019. Rôle de la connectivité et de l'adaptation locale dans la structure et le fonctionnement des populations de coquilles Saint-Jacques (*Pecten maximus*) en Manche, Mer d'Iroise et Rade de Brest (Doctoral dissertation, Brest).
- Hansen, S.C., Gosselin, L.A., 2013. Do predators, handling stress or field acclimation periods influence the survivorship of hatchery-reared abalone *Haliotis kamtschatkana* outplanted into natural habitats? *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 23 (2), 246-253.
- Hansen, S.C., Gosselin, L.A., 2016. Are hatchery-reared abalone naïve of predators? Comparing the behaviours of wild and hatchery-reared northern abalone, *Haliotis kamtschatkana* (Jonas, 1845). *Aquaculture Research*, 47 (6), 1727-1736.
- Harney, E., Lachambre, S., Roussel, S., Huchette, S., Enez, F., Morvezen, R., Haffray, P., Boudry, P., 2018. Transcriptome based SNP discovery and validation for parentage assignment in hatchery progeny of the European abalone *Haliotis tuberculata*. *Aquaculture*, 491, 105-113.
- Harrison, X.A., Donaldson, L., Correa-Cano, M.E., Evans, J., Fisher, D.N., Goodwin, C.E., Robinson, B.S., Hodgson, D.J., Inger, R., 2018. A brief introduction to mixed effects modelling and multi-model inference in ecology. *PeerJ*, 6, e4794.
- Hart, A.M., Strain, L.W., Fabris, F., Brown, J., Davidson, M., 2013 (a). Stock enhancement in Greenlip Abalone part I: Long-term growth and survival. *Reviews in Fisheries Science*. 21 (3-4), 299-309.
- Hart, A.M., Fabris, F., Strain, L.W., Davidson, M., Brown, J., 2013 (b). Stock enhancement in Greenlip Abalone part II: Population and ecological effects. *Reviews in Fisheries Science*, 21(3-4), 310-320.
- Hofmeister, J.K., Kawana, S.K., Walker, B.J., Catton, C.A., Taniguchi, I., Stein, D.M., Sowul, K., Rogers-Bennett, L., 2018. Temporal and spatial patterns in behavioral responses of marine predators to a sudden influx of abalone prey (*Haliotis rufescens*). *Hydrobiologia*, 813 (1), 123-136.
- Hooper, C., Day, R., Slocombe, R., Handler, J., Benkendorff, K., 2007. Stress and immune responses in abalone: limitations in current knowledge and investigative methods based on other models. *Fish & shellfish immunology*. 22 (4), 363-379.

- Hooper, C., Day, R., Slocombe, R., Benkendorff, K., Handlinger, J., 2011. Effect of movement stress on immune function in farmed Australian abalone (hybrid *Haliotis laevis* and *Haliotis rubra*). *Aquaculture*. 315 (3-4), 348-354.
- Hornick, K.M., Plough, L.V., 2019. Tracking genetic diversity in a large-scale oyster restoration program: effects of hatchery propagation and initial characterization of diversity on restored vs. wild reefs. *Heredity*. 123 (2), 92-105
- Huchette, S.M., Koh, C.S., Day, R.W., 2003. The effects of density on the behaviour and growth of juvenile blacklip abalone (*Haliotis rubra*). *Aquaculture International*. 11 (5), 411-428.
- Huchette, S.M.H., Clavier, J., 2004. Status of the ormer (*Haliotis tuberculata* L.) industry in Europe. *Journal of Shellfish Research*, 23 (4), 951-956.
- Huchette, S.M., Day, R.W., Shepherd, S.A., 2005. A review of abalone stock enhancement. Stock enhancement of marine and freshwater fisheries. Canberra: Australian Society for Fish Biology. 58-69.
- Hunter, E., Naylor, E., 1993. Intertidal migration by the shore crab *Carcinus maenas*. *Marine Ecology-Progress Series*, 101, 131-131.
- Huntingford, F.A., 2004. Implications of domestication and rearing conditions for the behaviour of cultivated fishes. *Journal of Fish Biology*, 65, 122-142.
- Hurlbert, S.H., 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological monographs*, 54 (2), 187-211.



- Imron, Jeffrey, B., Hale, P., Degnan, B.M., Degnan, S.M., 2007. Pleistocene isolation and recent gene flow in *Haliotis asinina*, an Indo-Pacific vetigastropod with limited dispersal capacity. *Molecular Ecology*. 16 (2), 289-304.

– J –

- Jackson, C.D., Brown, G.E., 2011. Differences in antipredator behaviour between wild and hatchery-reared juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) under seminatural conditions. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 68 (12), 2157-2166.
- Jensen, P., 2006. Domestication—from behaviour to genes and back again. *Applied animal behaviour science*, 97 (1), 3-15.
- Jensen, P., 2015. Adding ‘epi-’ to behaviour genetics: implications for animal domestication. *Journal of Experimental Biology*, 218 (1), 32-40.
- Jones, L.A., Hiscock, K., Connor, D.W., 2000. Marine habitat reviews. A summary of ecological requirements and sensitivity characteristics for the conservation and management of marine SACs. Joint Nature Conservation Committee, Peterborough. (UK Marine SACs Project report).

– K –

- Kaiser, H., Erasmus, B., Naylor, M., 2017. Behavioural responses of farmed South African abalone *Haliotis midae* L. to disturbances caused by husbandry procedures. *Aquaculture international*, 25 (1), 21-29.
- Kangas, M., Shepherd, S.A., 1984. Distribution and feeding of chitons in a boulder habitat at West Island, South Australia. *Journal of the Malacological Society of Australia*. 6 (3-4), 101-111.
- Keenan, K., McGinnity, P., Cross, T.F., Crozier, W.W., Prodöhl, P.A., 2013. diveRsity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in ecology and evolution*. 4 (8), 782-788.
- Kitada, S., 2018. Economic, ecological and genetic impacts of marine stock enhancement and sea ranching: A systematic review. *Fish and Fisheries*. 19 (3), 511-532.
- Kiyomoto, S., 2007. The presence of scavengers increases the vulnerability of juvenile abalone to predatory fish. *Fisheries science*. 73 (3), 732-734.
- Kunze, C., Wölfelschneider, M., Rölfer, L., 2021. Multiple Driver Impacts on Rocky Intertidal Systems: The Need for an Integrated Approach. *Frontiers in Marine Science*, 578.

- Lachambre, S., 2017. Mise en place d'un plan de sélection génétique pour l'ormeau européen *Haliotis tuberculata*. Doctoral dissertation, Brest.
- Lachambre, S., Day, R., Boudry, P., Huchette, S., Rio-Cabello, A., Fustec, T., Roussel, S., 2017 (a). Stress response of farmed European abalone reveals rapid domestication process in absence of intentional selection. *Applied Animal Behaviour Science*, 196, 13-21.
- Lachambre, S., Huchette, S., Day, R., Boudry, P., Rio-Cabello, A., Fustec, T., Roussel, S., 2017 (b). Relationships between growth, survival, physiology and behaviour—A multi-criteria approach to *Haliotis tuberculata* phenotypic traits. *Aquaculture*, 467, 190-197.
- Lachance, J., Tishkoff, S.A., 2013. SNP ascertainment bias in population genetic analyses: why it is important, and how to correct it. *Bioessays*. 35 (9), 780-786.
- Lafferty, K.D., Behrens, M.D., Davis, G.E., Haaker, P.L., Kushner, D.J., Richards, D.V., Taniguchi, I.K., Tegner, M.J., 2004. Habitat of endangered white abalone, *Haliotis sorenseni*. *Biological Conservation*. 116 (2), 191-194.
- Laikre, L., Schwartz, M.K., Waples, R.S., Ryman, N., GeM Working Group., 2010. Compromising genetic diversity in the wild: unmonitored large-scale release of plants and animals. *Trends in ecology & evolution*. 25 (9), 520-529.
- Lallias, D., Boudry, P., Lapegue, S., King, J.W., Beaumont, A.R., 2010. Strategies for the retention of high genetic variability in European flat oyster (*Ostrea edulis*) restoration programmes. *Conservation Genetics*. 11 (5), 1899-1910.
- Lazure, P., Dumas, F., 2008. An external–internal mode coupling for a 3D hydrodynamical model for applications at regional scale (MARS). *Advances in water resources*. 31 (2), 233-250.
- Le Hir, M., Hily, C., 2005. Macrofaunal diversity and habitat structure in intertidal boulder fields. *Biodiversity & Conservation*. 14 (1), 233-250.
- Le Pennec, M., Paugam, A., Le Pennec, G., 2003. The pelagic life of the pectinid *Pecten maximus*—a review. *ICES Journal of Marine Science*. 60 (2), 211-233.
- Le Petit, M., 2009. Monographie et étude de la dynamique de population d'*Haliotis tuberculata* au Sénégal. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort.

- Le Vay, L., Carvalho, G.R., Quinitio, E.T., Lebata, J.H., Ut, V.N., Fushimi, H., 2007. Quality of hatchery-reared juveniles for marine fisheries stock enhancement. *Aquaculture*, 268 (1-4), 169-180.
- Lebata-Ramos, M.J.H., Doyola-Solis, E.F.C., Abrogueña, J.B.R., Ogata, H., Sumbing, J.G., Sibonga, R.C., 2013. Evaluation of post-release behavior, recapture, and growth rates of hatchery-reared abalone *Haliotis asinina* released in Sagay Marine Reserve, Philippines. *Reviews in Fisheries Science*. 21 (3-4), 433-440.
- Lee, J.S.F., Berejikian, B.A., 2008. Effects of the rearing environment on average behaviour and behavioural variation in steelhead. *Journal of Fish Biology*. 72 (7), 1736-1749.
- Lee, L.C., Watson, J.C., Trebilco, R., Salomon, A.K., 2016. Indirect effects and prey behavior mediate interactions between an endangered prey and recovering predator. *Ecosphere*. 7 (12), e 01604.
- Lessard, J., Campbell, A., 2007. Describing northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*, habitat: focusing rebuilding efforts in British Columbia, Canada. *Journal of Shellfish Research*, 26 (3), 677-687.
- Lester, B.M., Tronick, E., Nestler, E., Abel, T., Kosofsky, B., Kuzawa, C.W., Marsit, C.J., Maze, I., Meaney, M.J., Monteggia, L.M., Reul, J.M., Skuse, D.H., Sweatt, J.D., Wood, M.A., 2011. Behavioral epigenetics. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1226, 14-33.
- Li, J., Wang, M., Fang, J., Liu, X., Xue, S., Mao, Y., Liu, G., 2018. A comparison of offspring growth and survival among a wild and a selected strain of the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*) and their hybrids. *Aquaculture*. 495, 721-725.
- Lin, A.Y.M., Brunner, R., Chen, P.Y., Talke, F.E., Meyers, M.A., 2009. Underwater adhesion of abalone: the role of van der Waals and capillary forces. *Acta materialia*. 57 (14), 4178-4185.
- Lloyd, M.J., Bates, A.E., 2008. Influence of density-dependent food consumption, foraging and stacking behaviour on the growth rate of the Northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*. *Aquaculture*. 277 (1-2), 24-29.
- Lorenzen, K., Beveridge, M.C., Mangel, M., 2012. Cultured fish: integrative biology and management of domestication and interactions with wild fish. *Biological Reviews*, 87 (3), 639-660.

– M –

- Malham, S.K., Lacoste, A., Gélébart, F., Cueff, A., Poulet, S.A., 2003. Evidence for a direct link between stress and immunity in the mollusc *Haliotis tuberculata*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*. 295 (2), 136-144.
- Malomane, D.K., Reimer, C., Weigend, S., Weigend, A., Sharifi, A.R., Simianer, H., 2018. Efficiency of different strategies to mitigate ascertainment bias when using SNP panels in diversity studies. *BMC genomics*. 19 (1), 1-16.
- Marchais, V., 2014. Relations trophiques entre producteurs primaires et quatre consommateurs primaires benthiques dans un écosystème côtier tempéré (Doctoral dissertation, Brest).
- McCormick, T.B., Herbinson, K., Mill, T.S., Altick, J., 1994. A review of abalone seeding, possible significance and a new seeding device. *Bulletin of Marine Science*. 55 (2-3), 680-693.
- McGarvey, R., Mayfield, S., Byth, K., Saunders, T., Chick, R., Foureur, B., Feenstra, J.E., Preece, P., Jones, A., 2008. A diver survey design to estimate absolute density, biomass, and spatial distribution of abalone. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 65 (9), 1931-1944.
- McShane, P.E., Naylor, J.R., 1995. Depth can affect post-settlement survival of *Haliotis iris* (Mollusca: Gastropoda). *Journal of experimental marine biology and ecology*. 187 (1), 1-12.
- Meleder, V., 2007. Protocole de distribution des habitats benthiques.
- Melville-Smith, R., Adams, B., Wilson, N.J., Caccetta, L., 2013. Sea ranching trials for commercial production of greenlip (*Haliotis laevigata*) abalone in Western Australia. Final report to the Fisheries Research and Development Corporation, FRDC Project, (2012/220), 60.
- Merino, G., Barange, M., Blanchard, J.L., Harle, J., Holmes, R., Allen, I., Allison, E.H., Bedjeck, M.C., Dulvy, N., Holt, J., Jennings, S., Mullon, C., Rodwell, L.D., 2012. Can marine fisheries and aquaculture meet fish demand from a growing human population in a changing climate?. *Global Environmental Change*. 22 (4), 795-806.
- Mgaya, Y.D., Mercer, J.P., 1994. A review of the biology, ecology, fisheries and mariculture of the European abalone *Haliotis tuberculata* Linnaeus 1758 (Gastropoda: Haliotidae). In *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy*. 285-304.

- Milinski, M., 1997. How to avoid seven deadly sins in the study, in: Slater, P.J.S., Rosenblatt, J.S., Snowdon, C.T., Milinski, M (eds). *Advances in the study of behavior*. San Diego: Academic Press. pp 159_180.
- Miller, A.D., Van Rooyen, A., Rašić, G., Ierodionou, D.A., Gorfine, H.K., Day, R., Wong, C., Hoffmann, A.A., Weeks, A.R., 2016. Contrasting patterns of population connectivity between regions in a commercially important mollusc *Haliotis rubra*: integrating population genetics, genomics and marine LiDAR data. *Molecular ecology*. 25 (16), 3845-3864.
- Miller, A.D., Hoffmann, A.A., Tan, M.H., Young, M., Ahrens, C., Cocomazzo, M., Rattray, A., Ierodionou, D.A., Trembl, E., Sherman, C.D., 2019. Local and regional scale habitat heterogeneity contribute to genetic adaptation in a commercially important marine mollusc (*Haliotis rubra*) from southeastern Australia. *Molecular ecology*, 28(12), 3053-3072.
- Morash, A.J., Alter, K., 2016. Effects of environmental and farm stress on abalone physiology: perspectives for abalone aquaculture in the face of global climate change. *Reviews in Aquaculture*. 8 (4), 342-368.
- Morgan, L.E., Shepherd, S.A., 2006. Population and spatial structure of two common temperate reef herbivores: abalone and sea urchins. *Marine metapopulations*. 205-246.
- Morvezen, R., Cornette, F., Charrier, G., Guinand, B., Lapegue, S., Boudry, P., Laroche, J., 2013. Multiplex PCR sets of novel microsatellite loci for the great scallop *Pecten maximus* and their application in parentage assignment. *Aquatic living resources*. 26 (3), 207-213.
- Morvezen, R., Boudry, P., Laroche, J., Charrier, G., 2016 (a). Stock enhancement or sea ranching? Insights from monitoring the genetic diversity, relatedness and effective population size in a seeded great scallop population (*Pecten maximus*). *Heredity*. 117 (3), 142-148.
- Morvezen, R., Charrier, G., Boudry, P., Chauvaud, L., Breton, F., Strand, Ø., Laroche, J., 2016 (b). Genetic structure of a commercially exploited bivalve, the great scallop *Pecten maximus*, along the European coasts. *Conservation Genetics*. 17 (1), 57-67.

— N —

- Nakamura, K., Archdale, M.V., 2001. Activity patterns of abalone under experimental conditions. *Aquaculture Research*. 32 (3), 169-179.

- Nam, S.E., Haque, M.N., Lee, J.S., Park, H.S., Rhee, J.S., 2020. Prolonged exposure to hypoxia inhibits the growth of Pacific abalone by modulating innate immunity and oxidative status. *Aquatic Toxicology*. 227, 105596.
- Naylor, J.R., McShane, P.E., 2001. Mortality of post-settlement abalone *Haliotis iris* caused by conspecific adults and wave exposure. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 35 (2), 363-369.
- Nicolas, J.L., Basuyaux, O., Mazurie, J., Thebault, A., 2002. *Vibrio carchariae*, a pathogen of the abalone *Haliotis tuberculata*. *Diseases of aquatic organisms*, 50 (1), 35-43.
- Norman, C.P., Jones, M.B., 1992. Influence of depth, season and moult stage on the diet of the velvet swimming crab *Necora puber* (Brachyura, Portunidae). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 34 (1), 71-83.

– O –

- Okuzawa, K., Maliao, R.J., Quintio, E.T., Buen-Ursua, S.M.A., Lebata, M.J.H.L., Gallardo, W.G., Garcia L.M.B., Primavera, J.H., 2008. Stock enhancement of threatened species in Southeast Asia. *Reviews in Fisheries Science*. 16 (1-3), 394-402.
- Olley, J., Thrower, S.J., 1977. Abalone-an esoteric food. *Advances in food research*. 23, 143-186.
- Öndes, F., Kaiser, M.J., & Güçlüsoy, H., 2020. Human impacts on the endangered fan mussel, *Pinna nobilis*. *Aquatic conservation: Marine and freshwater ecosystems*. 30 (1), 31-41.

– P –

- Pailler, Y., Nicolas, C., Une maison sous les dunes : Beg ar Loued, île Molène, Finistère. Identité et adaptation des groupes humains en mer d'Iroise à la transition des IIIe – IIe millénaires avant Notre ère. Ed. Sidestone.
- Parsons, D. W., Macmillan, D.L., 1979. The escape response of abalone (Mollusca, Prosobranchia, Haliotidae) to predatory gastropods. *Marine & Freshwater Behaviour & Physiology*, 6 (1), 65-82.

- Patten, M.A., 2015. Subspecies and the philosophy of science. *The Auk: Ornithological Advances*. 132 (2), 481-485.
- Pauly, D., Watson, R., Alder, J., 2005. Global trends in world fisheries: impacts on marine ecosystems and food security. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 360 (1453), 5-12.
- Peck, L.S., Culley, M.B., 1990. Structure and density of *Haliotis tuberculata* populations around the coasts of Jersey, Channel Isles. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 70 (1), 67-75.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., Heisterkamp, S., Van Willigen, B., Maintainer, R., 2017. Package 'nlme'. Linear and nonlinear mixed effects models, version, 3 (1).
- Pocheville, A., 2010. La niche écologique: concepts, modèles, applications (Doctoral dissertation, Ecole Normale Supérieure de Paris-ENS Paris).
- Poore, G.C., 1972. Ecology of New Zealand abalones, *Haliotis* species (Mollusca: Gastropoda) 3. Growth. *New Zealand journal of marine and freshwater research*. 6 (4), 534-559.
- Price, E.O., 1984. Behavioral aspects of animal domestication. *The quarterly review of biology*, 59 (1), 1-32.
- Price, E.O., 1999. Behavioral development in animals undergoing domestication. *Applied Animal Behaviour Science*, 65 (3), 245-271.
- Prince, J.D., Sellers, T.L., Ford, W.B., Talbot, S.R., 1988. Recruitment, growth, mortality and population structure in a southern Australian population of *Haliotis rubra* (Mollusca: Gastropoda). *Marine biology*. 100 (1), 75-82.
- Prince, J.D., Peeters, H., Gorfine, H., Day, R.W., 2008. The novel use of harvest policies and rapid visual assessment to manage spatially complex abalone resources (Genus *Haliotis*). *Fisheries Research*. 94 (3), 330-338.

– R –

- Raemaekers, S., Hauck, M., Bürgener, M., Mackenzie, A., Maharaj, G., Plagányi, É.E., & Britz, P.J., 2011. Review of the causes of the rise of the illegal South African abalone fishery and consequent closure of the rights-based fishery. *Ocean & Coastal Management*, 54 (6), 433-445.
- Rapport FAO., 2020. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture.
- Rapport du projet VALMER., 2016. Evaluation des services écosystémiques du champ de laminaires de l'archipel de Molène.
- R Core Team., 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rhode, C., Hepple, J.A., Jansen, S., Davis, T., Vervalle, J., Bester-van der Merwe, A.E., Roodt-Wilding, R., 2012. A population genetic analysis of abalone domestication events in South Africa: Implications for the management of the abalone resource. *Aquaculture*. 356, 235-242.
- Rhode, C., Bester-van der Merwe, A.E., Roodt-Wilding, R., 2017. An assessment of spatio-temporal genetic variation in the South African abalone (*Haliotis midae*), using SNPs: implications for conservation management. *Conservation genetics*. 18 (1), 17-31.
- Richard, O., 1988. Reconnaissance des populations naturelles d'ormeaux. Syndicat Mixte pour l'Équipement du Littoral – SMEL.
- Rick, T.C., Lockwood, R., 2013. Integrating paleobiology, archeology, and history to inform biological conservation. *Conservation Biology*. 27 (1), 45-54.
- Roberts, R.D., Lapworth, C., Barker, R.J., 2001. Effect of starvation on the growth and survival of post-larval abalone (*Haliotis iris*). *Aquaculture*. 200 (3-4), 323-338.
- Roberts, R.D., Keys, E.F., Prendeville, G., Pilditch, C.A., 2007. Viability of abalone (*Haliotis iris*) stock enhancement by release of hatchery-reared seed in Marlborough, New Zealand. *Journal of Shellfish Research*, 26 (3), 697-704.
- Robinson, N., Smith, B., Cooke, I., Strugnell, J., 2013. A snail's pace: a preliminary analysis of the effects of stress and genetics on movement of *Haliotis*. *Aquaculture*, 376, 25-35.

- Rogers-Bennett, L., Pearse, J.S., 2001. Indirect benefits of marine protected areas for juvenile abalone. *Conservation Biology*, 15 (3), 642-647.
- Rogers-Bennett, L., Allen, B.L., Rothaus, D.P., 2011. Status and habitat associations of the threatened northern abalone: importance of kelp and coralline algae. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 21 (6), 573-581.
- Roussel, S., Huchette, S., Clavier, J., Chauvaud, L., 2011. Growth of the European abalone (*Haliotis tuberculata* L.) in situ: Seasonality and ageing using stable oxygen isotopes. *Journal of sea research*, 65 (2), 213-218.
- Roussel, V., Van Wormhoudt, A., 2017. The effect of Pleistocene climate fluctuations on distribution of European abalone (*Haliotis tuberculata*), revealed by combined mitochondrial and nuclear marker analyses. *Biochemical genetics*, 55 (2), 124-154.
- Roussel, S., Bisch, T., Lachambre, S., Boudry, P., Gervois, J.L., Lambert, C., Huchette, S., Day, R., 2019. Anti-predator response of *Haliotis tuberculata* is modified after only one generation of domestication. *Aquaculture Environment Interactions*, 11, 129-142.
- Roussel, S., Poitevin, P., Day, R., Le Grand, F., Stiger-Pouvreau, V., Leblanc, C., Huchette, S., 2020. *Haliotis tuberculata*, a generalist marine herbivore that prefers a mixed diet, but with consistent individual foraging activity. *Ethology*, 126(7), 716-726.

– S –

- Saunders, T.M., 2009. Using shell morphology to characterise abalone populations across multiple spatial scales (Doctoral dissertation).
- Scheirer, C.J., Ray, W.S., Hare, N., 1976. The analysis of ranked data derived from completely randomized factorial designs. *Biometrics*, 429-434.
- Schiel, D.R., Welden, B.C., 1987. Responses to predators of cultured and wild red abalone, *Haliotis rufescens*, in laboratory experiments. *Aquaculture*, 60 (3-4), 173-188.
- Schiel, D.R., 1993. Experimental evaluation of commercial-scale enhancement of abalone *Haliotis iris* populations in New Zealand. *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 97 (2), 167-181.

- Searcy-Bernal, R., Anguiano-Beltrán, C., Espinoza-Montes, J.A., Carpizo-Ituarte, E., 2013. Restocking of abalone populations (*Haliotis spp.*) in Mexico. *Journal of Shellfish Research*, 32 (1), 189-196.
- Selig, E.R., Hole, D.G., Allison, E.H., Arkema, K.K., McKinnon, M.C., Chu, J., ..., Zvoleff, A., 2019. Mapping global human dependence on marine ecosystems. *Conservation Letters*. 12 (2).
- Serviere-Zaragoza, E., García-Hernández, V.C., Siqueiros-Beltrones, D.A., 2003. Diversity and distribution of macroalgae associated with abalone (*Haliotis spp.*) habitats in Baja California Sur, Mexico. *Bulletin of marine science*. 72 (3), 725-739.
- Shackell, N.L., Frank, K.T., Brickman, D.W., 2005. Range contraction may not always predict core areas: an example from marine fish. *Ecological Applications*. 15 (4), 1440-1449.
- Sheedy, J.R., Lachambre, S., Gardner, D.K., Day, R.W., 2016. ¹H-NMR metabolite profiling of abalone digestive gland in response to short-term starvation. *Aquaculture internationale*. 24 (2), 503-521.
- Shepherd, S.A., 1973. Studies on southern Australian abalone (genus *Haliotis*). I. Ecology of five sympatric species. *Marine and Freshwater Research*, 24 (3), 217-258.
- Shepherd, S.A., Turner, J.A., 1985. Studies on southern Australian abalone (genus *Haliotis*). VI. Habitat preference, abundance and predators of juveniles. *Journal of experimental marine biology and ecology*. 93 (3), 285-298.
- Shepherd, S.A., Lowe, D., Partington, D., 1992. Studies on southern Australian abalone (genus *Haliotis*) XIII: larval dispersal and recruitment. *Journal of experimental marine biology and ecology*. 164 (2), 247-260.
- Shepherd, S.A., Partington, D., 1995. Studies on southern Australian abalone (Genus *Haliotis*), 16. Recruitment, habitat and stock relations. *Marine and Freshwater Research*. 46 (3), 669-680.
- Shepherd, S.A., Al-Wahaibi, D., Al-Azri, A.R., 1995. Shell growth checks and growth of the Omani abalone *Haliotis mariae*. *Marine and freshwater research*. 46 (3), 575-582.
- Shepherd, S.A., Avalos-Borja, M., 1997. The shell microstructure and chronology of the abalone *Haliotis corrugata*. *Molluscan Research*. 18 (2), 197-207.
- Shepherd, S. A., 1998. Studies on southern Australian abalone (genus *haliotis*) XIX: long-term. *Journal of Shellfish Research*. 17 (3), 813-825.

- Silva, A.C.F., Hawkins, S.J., Boaventura, D.M., Thompson, R.C., 2008. Predation by small mobile aquatic predators regulates populations of the intertidal limpet *Patella vulgata* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 367 (2), 259-265.
- Silva, A.C., Hawkins, S.J., Clarke, K.R., Boaventura, D.M., Thompson, R.C., 2010. Preferential feeding by the crab *Necora puber* on differing sizes of the intertidal limpet *Patella vulgata*. *Marine Ecology Progress Series*, 416, 179-188.
- Sloan, N.A., Breen, P.A., 1988. Northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*, in British Columbia: fisheries and synopsis of life history information.
- Sobhon, P., Apisawetakan, S., Chanpoo, M., Wanichanon, C., Linthong, V., Thongkukiattkul, A., Jarayabhand, P., Kruatrachue, M., Upatham, S., Poomthong, T., 1999. Classification of germ cells, reproductive cycle and maturation of gonads in *Haliotis asinina* Linnaeus. *Sci. Asia*. 25 (1), 3-21.
- Spicer, J.I., 2014. What can an ecophysiological approach tell us about the physiological responses of marine invertebrates to hypoxia? *Journal of Experimental Biology*, 217 (1), 46-56.
- Straus, K.M., Friedman, C.S., 2009. Restoration aquaculture of the pinto abalone (*Haliotis kamtschatkana kamtschatkana* Jonas): impacts of rearing method on behaviour, growth and survivorship in the hatchery. *Marine and Freshwater Research*, 60 (10), 1021-1028.
- Stierhoff, K.L., Neuman, M., Butler, J.L., 2012. On the road to extinction? Population declines of the endangered white abalone, *Haliotis sorenseni*. *Biological Conservation*. 152, 46-52.
- Strain, E.M., Johnson, C.R., 2010. Scale-dependent relationships between benthic habitat characteristics and abundances of blacklip abalone, *Haliotis rubra* (Leach). *Marine and freshwater research*. 61 (11), 1227-1236.
- Straus, K.M., Friedman, C.S., 2009. Restoration aquaculture of the pinto abalone (*Haliotis kamtschatkana kamtschatkana* Jonas): impacts of rearing method on behaviour, growth and survivorship in the hatchery. *Marine and Freshwater Research*. 60 (10), 1021-1028.
- Sumitomo, T., Kakisawa, H., Kagawa, Y., 2011. Nanoscale structure and mechanical behavior of growth lines in shell of abalone *Haliotis gigantea*. *Journal of structural biology*. 174 (1), 31-36.
- Szumilas, M., 2010. Explaining odds ratios. *Journal of the Canadian academy of child and adolescent psychiatry*, 19 (3), 227.

- Takami, H., Kawamura, T., 2018. Ontogenetic habitat shift in abalone *Haliotis discus hannai*: a review. *Fisheries science*. 84 (2), 189-200
- Taniguchi, I.K., Stein, D., Lampson, K., Rogers-Bennett, L., 2013. Testing translocation as a recovery tool for pink (*Haliotis corrugata*) and green (*Haliotis fulgens*) abalone in southern California. *Journal of Shellfish Research*. 32 (1), 209-216.
- Taris, N., Batista, F.M., Boudry, P., 2007. Evidence of response to unintentional selection for faster development and inbreeding depression in *Crassostrea gigas* larvae. *Aquaculture*, 272, 69-79.
- Teletchea, F., Fontaine, P., 2014. Levels of domestication in fish: implications for the sustainable future of aquaculture. *Fish and fisheries*, 15 (2), 181-195.
- Temby, N., Miller, K., Mundy, C., 2007. Evidence of genetic subdivision among populations of blacklip abalone (*Haliotis rubra* Leach) in Tasmania. *Marine and Freshwater Research*. 58 (8), 733-742.
- Tomascik, T., Holmes, H., 2003. Habitat, competitors and predators in the broken group island, Pacific. *Journal of Shellfish Research*. 22 (3), 831-838.
- Travers, M.A., 2008. Interaction de la bactérie *Vibrio harveyi* avec son hôte, l'ormeau *Haliotis tuberculata*: approches physiologiques, cellulaires et moléculaires (Doctoral dissertation, Université de Bretagne Occidentale, Brest).
- Travers, M.A., Basuyaux, O., Le Goïc, N., Huchette, S., Nicolas, J.L., Koken, M., Paillard, C., 2009. Influence of temperature and spawning effort on *Haliotis tuberculata* mortalities caused by *Vibrio harveyi*: an example of emerging vibriosis linked to global warming. *Global Change Biology*, 15 (6), 1365-1376.
- Tutschulte, T.C., Connell, J.H., 1988. Feeding behavior and algal food of three species of abalones (*Haliotis*) in southern California. *Marine ecology progress series*. Oldendorf, 49 (1), 57-64.

– V –

- Van Den Bergb, N.C., Roodt-Wilding, R., 2010. Parentage assignment in *Haliotis midae* L.: a precursor to future genetic enhancement programmes for South African abalone. *Aquaculture Research*. 41 (9), 1387-1395.
- Van Wormhoudt, A., Le Bras, Y., Huchette, S., 2009. *Haliotis marmorata* from Senegal; a sister species of *Haliotis tuberculata*: Morphological and molecular evidence. *Biochemical Systematics and Ecology*. 37 (6), 747-755.
- Viana, M.T., D'Abramo, L.R., Gonzalez, M.A., García-Suárez, J.V., Shimada, A., Vásquez-Peláez, C., 2007. Energy and nutrient utilization of juvenile green abalone (*Haliotis fulgens*) during starvation. *Aquaculture*. 264 (1-4), 323-329.
- Viera Toledo, M.D.P., 2014. Development of a sustainable grow-out technology for abalone *Haliotis tuberculata coccinea* (Reeve) as a new species for aquaculture diversification in the Canary Islands (Doctoral dissertation).
- Vigne, J.D., 2011. The origins of animal domestication and husbandry: a major change in the history of humanity and the biosphere. *Comptes rendus biologies*. 334 (3), 171-181.

– W –

- Wallace, S.S., 1999. Evaluating the effects of three forms of marine reserve on northern abalone populations in British Columbia, Canada. *Conservation Biology*. 13 (4), 882-887.
- Warton, D.I., Hui, F.K., 2011. The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology. *Ecology*, 92 (1), 3-10.
- Weeks, A.R., Sgro, C.M., Young, A.G., Frankham, R., Mitchell, N.J., Miller, K.A., Byrne, M., Coates, D.J., Eldridge, M.D.B., Sunnucks, P., Breed, M.F., James, E.A., Hoffmann, A.A., 2011. Assessing the benefits and risks of translocations in changing environments: a genetic perspective. *Evolutionary Applications*. 4 (6), 709-725.
- Weir, B.S., Cockerham, C.C., 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *evolution*. 1358-1370.

- Weis, J.S., Smith, G., Zhou, T., Santiago-Bass, C., Weis, P., 2001. Effects of contaminants on behavior: biochemical mechanisms and ecological consequences: killifish from a contaminated site are slow to capture prey and escape predators; altered neurotransmitters and thyroid may be responsible for this behavior, which may produce population changes in the fish and their major prey, the grass shrimp. *Bioscience*. 51 (3), 209-217.
- Wells, R.M., Baldwin, J., 1995. A comparison of metabolic stress during air exposure in two species of New Zealand abalone, *Haliotis iris* and *Haliotis australis*: implications for the handling and shipping of live animals. *Aquaculture*. 134 (3-4), 361-370.
- Wells, R.M., McShane, P.E., Ling, N., Wong, R.J., Lee, T.O., Baldwin, J., 1998. Effect of wave action on muscle composition, metabolites and growth indices in the New Zealand abalone, Paua (*Haliotis iris*), with implications for harvesting and aquaculture. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 119 (1), 129-136.
- Werner, I., Flothmann, S., Burnell, G., 1995. Behaviour studies on the mobility of two species of abalone (*Haliotis tuberculata* and *H. discus hannai*) on sand: implications for reseeding programmes. *Marine and freshwater research*, 46 (3), 681-688.
- Weulersse, J., 1928. Le bassin d'Arcachon. In *Annales de Géographie*. 37 (209), 407-427.
- Whiterod, N.S., Zukowski, S., Asmus, M., Gilligan, D., Miller, A.D., 2016. Genetic analyses reveal limited dispersal and recovery potential in the large freshwater crayfish *Euastacus armatus* from the southern Murray–Darling Basin. *Marine and Freshwater Research*. 68 (2), 213-225.
- Won, N.I., Kawamura, T., Onitsuka, T., Hayakawa, J., Watanabe, S., Horii, T., Takami, H., Watanabe, Y., 2007. Community and trophic structures of abalone *Haliotis diversicolor* habitat in Sagami Bay, Japan. *Fisheries science*. 73 (5), 1123-1136.
- Won, N.I., Kawamura, T., Takami, H., Hoshikawa, H., Watanabe, Y., 2011. Comparison of abalone (*Haliotis discus hannai*) catches in natural habitats affected by different current systems: implication of climate effects on abalone fishery. *Fisheries Research*. 11 0(1), 84-91.
- Won, N. I., Kawamura, T., Takami, H., Watanabe, Y., 2013. Trophic structure in natural habitats of the abalone *Haliotis discus hannai* with distinct algal vegetation of kelp and crustose coralline algae: implication of ontogenetic niche shifts. *Fisheries science*. 79 (1), 87-97.

Wood, A.D., 1993. Aspects of the biology and ecology of the South African abalone *Haliotis midae* Linnaeus, 1758 (Mollusca: Gastropoda) along the Eastern Cape and Ciskei coast (Doctoral dissertation, Rhodes University).

WoRMS Editorial Board., 2021. World Register of Marine Species.

– Z –

Zeeman, Z., Branch, G.M., Peschak, T.P., Pillay, D., 2012. Assessing the ecosystem effects of the abalone *Haliotis midae* from its diet and foraging behaviour. *African Journal of Marine Science*, 34 (2), 205-214.

Titre : Semer l'ormeau dans le milieu naturel : rôles du milieu et des caractéristiques biologiques de *Haliotis tuberculata* dans la réussite du repeuplement

Mots clés : Ormeau – Repeuplement – Soutien de stocks – Diversité génétique – Ecologie benthique - Comportement

Résumé : Cette thèse a consisté à définir et à analyser les facteurs déterminants la réussite d'opérations de repeuplement ou de soutien de stocks de certaines populations de l'ormeau européen (*Haliotis tuberculata*), qui se sont effondrées au cours des deux dernières décennies.

Dans cette optique, les deux premiers chapitres ont été consacrés d'une part à analyser les effets de la domestication sur le comportement de juvéniles provenant de nurserie, et d'autre part à évaluer l'impact de plusieurs facteurs de stress en amont de l'implantation (préparation, transport et sous-nutrition) sur des comportements essentiels à la survie des ormeaux en milieu naturel. Les résultats suggèrent que la domestication n'impacte pas le comportement. En revanche, les stress ont engendré des modifications comportementales potentiellement préjudiciables à la survie dans le milieu naturel. Un troisième chapitre a permis de caractériser l'habitat de l'ormeau en plongée sous-marine, afin de mettre en évidence les facteurs environnementaux essentiels à sa survie et son développement. Il est apparu que la taille et l'agencement des blocs rocheux jouent un rôle prépondérant dans la capacité d'un environnement à accueillir des ormeaux.

Le quatrième chapitre a étudié la diversité génétique de populations sauvages de Bretagne et de Normandie, ainsi que plusieurs cohortes de trois générations d'élevage. Il a été montré que les populations naturelles situées de part et d'autre du front de Ouessant sont génétiquement différenciées, ce courant représentant probablement une barrière naturelle aux flux larvaires. De plus, le processus d'élevage a permis jusqu'à maintenant de maintenir une diversité génétique élevée. Ces résultats sont encourageants car ils suggèrent l'absence d'effets délétères de futures implantations sur la diversité génétique des populations naturelles. Les résultats issus de cette thèse apportent des connaissances indispensables pour identifier les précautions à prendre en amont de la mise en place de projets de repeuplement ou de soutien de stocks de l'ormeau européen.

Title : Success in abalone population enhancement: role of environment characteristics and biology of *Haliotis tuberculata*

Keyword : Abalone – Restocking – Stock enhancement – Genetic diversity – Benthic ecology – Behaviour

Abstract : This thesis analysed the factors that can impact the success of restocking or stock-enhancement programs for the European abalone (*Haliotis tuberculata*). Indeed, over the last two decades several populations of this species have collapsed. The possibility to support these populations is considered in order to reconstitute their past level.

In this perspective, the first two chapters were dedicated to analyse the effects of domestication on the behaviour of juveniles from nursery that would be implanted, and to evaluate the impact of several stressors (preparation, transport and feed restriction) prior to implantation on behaviours essential for the survival of abalone juveniles in the wild. The results suggest that domestication process does not impact the behaviours studied. However, the stress procedure caused behavioural changes that would be detrimental to survival after implantation in the wild. A third chapter focused on the characterisation of the biotic and abiotic factors constituting the abalone habitat, essential to their survival and development. It appeared that the size and arrangement of the boulders play a key role in the habitat quality.

The fourth chapter compared the genetic diversity of wild populations from Brittany and Normandy, as farmed cohorts from three generations. It was shown that the natural populations located on either side of the Ouessant front are genetically differentiated, as this current probably represents a natural barrier to larval flows. In addition, the rearing process has so far maintained a high genetic diversity. These results are encouraging because they showed that there would be no effect of seeding on the genetic diversity of wild populations. The results from this thesis will be used to provide essential answers on the precautions to be taken prior restocking or stock-enhancement programs.