

Université de La Rochelle

Faculté des Sciences et Technologies



Thèse de doctorat

Océanologie biologique et environnement marin



Christine Couturier



Effets des caractéristiques physico-chimiques et
biorhéologiques de l'eau sur la physiologie, les performances
adaptatives et la sélection de l'habitat chez la sole commune
Solea solea (Linnaeus, 1758)

Thèse dirigée par le Pr. Guy Nonnotte et le Dr Guy Claireaux
Soutenue publiquement à l'Université de La Rochelle le 26 juillet 2007

JURY

Rapporteurs M. NELSON Jay, Professeur, Université de Towson, Maryland, USA
M. AMARA Rachid, Professeur, Université Côte d'Opale, Wimereux, France

Examineurs Mme LEFRANCOIS Christel, Maître de conférence, UMR 6217 (CRELA), La Rochelle, France
M. NONNOTTE Guy, Professeur, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France
M. DESAUNAY Yves, Directeur de Recherche, Ifremer, Nantes, France
M. McKENZIE David, Chargé de Recherche CNRS, UMR5554 (ISEM), Sète, France

Invité M. CLAIREAUX Guy, Chargé de Recherche CNRS, UMR5554 (ISEM), Sète, France

“The man thinks, the dog thinks, the cow thinks;
The fish doesn't think, the fish is mute, emotionless;
The fish doesn't think because the fish knows everything...”

Conte Inuit

“Historically, tidal flats remained for long the muddy backwaters of marine ecological research. Compared to the vastness of the open sea, tidal flats seemed to be a negligible fringe, full of aberrant phenomena unworthy of attention to a science concerned with the world’s largest ecosystems. Being neither sea nor land, with most of the organisms hidden inside the sediment and tedious to extract, with no inviting place to sit down and reflect for a while, the sediments between the tidemarks and the turbid tidal waters attracted few scientists.

Indeed, by all standards tidal flat ecologists appear somewhat backward: they have neither ship nor diving gear at their disposal, but walk out in rubber boots with a spade in one hand and a bucket in the other as if to collect potatoes; and when they come back from their field work, they are besmeared all over with the sticky mud and yet confess they love it. This does not resemble exact scientific endeavour seeking the unifying laws of nature.”

Karsten Reise (1985)

Tidal flat ecology - An experimental approach to species interactions

- Remerciements -



Je voudrais tout d'abord remercier les membres du jury qui ont accepté de juger mon travail, les Pr. Jay Nelson, Rachid Amara, Guy Nonnotte et Guy Claireaux, et les Dr. Yves Désaunay et David McKenzie.

Je voudrais également remercier le Pr. Guy Nonnotte de m'avoir encadrée en tant que directeur de thèse, de m'avoir apporté son aide lorsque j'en avais besoin et d'avoir toujours été présent malgré la distance géographique,

J'adresse mes plus sincères remerciements au Dr. Guy Claireaux, pour m'avoir encadrée. Guy, merci pour tout, tout ce que tu m'as appris, pour ta présence, tes conseils, ton aide pour la rédaction... en anglais... et en français (!) et finalement d'avoir établi un contexte favorable pour le bon déroulement de ma thèse (à La Rochelle, à Sète, à Barcelone, Canterbury, Glasgow et Seattle). Merci de m'avoir appris l'organisation (!)... le ménage par le vide (« Surtout, il faut jeter tout ce qui pourrait servir ! ») et la théorie de la « boule à mite » qui me servira sûrement quand je serai vieille. Merci également à ta famille qui m'a accueillie si gentiment. J'ai une pensée émue pour Janik.

Je voudrais également remercier les Dr. David McKenzie et Denis Chabot pour m'avoir épaulée entre La Rochelle et Sète pour mes expériences. Merci surtout à vous deux pour les bons moments passés ensemble. En espérant que ce ne soit que le début !

Je remercie MM. Patrick Gentien, directeur du CREMA, Gérard Blanchard, directeur du CRELA, ainsi que François Bonhomme, Directeur de la Station Marine de l'Environnement Littoral de l'Université de Montpellier II de m'avoir accueillie dans leur laboratoire afin d'y réaliser mes expériences.

Je remercie également l'ensemble du personnel du CREMLA, les chercheurs et les techniciens : Nicolas Lachaussée, Michel Prineau, James Grizon, Lucette Joassard, Yves

Descatoires, Gaël Guillou, Martine Bréret, Françoise Mornet, Philippe Pineau et Didier Leguay, pour leurs conseils et leur aide tant au laboratoire que sur le terrain

Je remercie également le personnel de la SMEL à Sète, les chercheurs, les techniciens et les étudiants. Merci pour votre accueil, votre aide et votre bonne humeur !

Merci aux étudiantes qui ont participé à ce projet : Alice Rouault, Charlotte Tsai, Julie Damour et Sarah Jane D'Amour.

Je voudrais également remercier mes collègues thésards de La Rochelle et d'ailleurs parce qu'ils étaient ou sont devenus des amis et qu'on a passé de très bons moments, mais aussi parce qu'au cours d'une thèse, on se sent parfois seul(e) et comme on est un peu tous dans la même « galère », ça fait du bien de se sentir compris(e). Alors merci à Fariba Davoodi, Aurélien Châtelier, Mathieu Faure, Karine Gérard, Nathalie Malet, Delphine Degré, François Paticat, Stéphane Kervella, Benoît Lebreton, Eric Durieux, Sandie Millot, Yves Bourles et Seb ainsi qu'à Anne-Gaëlle Haubois, Marion Richard et Fred Lecomte qui eux ne sont plus en thèse, mais avec qui j'ai aussi partagé de très bons moments. Bon courage à tous pour la fin de la thèse ou du post-doc !

Je voudrais aussi adresser un grand merci à Aurélie Dupont-Prinet. C'était vraiment sympa de bosser avec toi (je sens que je suis un peu plus organisée grâce à toi 😊 !!!). J'espère que ce n'est que le début. Et puis surtout, on a passé de supers moments que ce soit au labo à La Rochelle ou à Friday Harbour. Merci pour ta complicité ;-)

Un clin d'œil au Cercle de l'Aviron de Mer de La Rochelle (l'aviron, mon exutoire pendant la rédaction) et plus particulièrement à Charles, Philippe, Eddie et Romain, l'équipe de choc qui a participé aux Championnats de France à St Malo et aux Championnats du Monde à Cannes-Mandelieu (eh oui !).

Merci à mes amis (surtout Clo, Mathieu, Alex, Saby et Marco) et ma famille (le clan Couturier-Renaudet). Merci à mes parents et à ma soeur qui ne comprennent pas toujours « ce que je bricole » mais qui m'offre un soutien sans faille. Merci pour votre amour.

Merci également à Claude et Pascal Bouchet pour leur gentillesse.

Et pour finir, merci à Vincent qui me soutient (ou me supporte...) avec patience et tant d'amour et de force, jours après jours. Merci de croire en moi, plus que moi-même parfois. Avec tout mon amour.

- Table des Matières -



Remerciements.....	ix
Table des Matières.....	1
Liste des Figures	7
Listes des Tableaux	13
Avant-propos	17
Introduction générale.....	21
Etat de l’art	31
1. Rhéologie	33
1.1. Définitions	33
1.2. Comportements rhéologiques.....	35
1.3. Eau de mer et rhéologie.....	36
2. Ventilation.....	36
3. Bioénergétique	39
3.1. Processus métaboliques, production d’ATP et oxygène	39
3.2. Concept de Fry (1971).....	43
4. Régulations physiologiques et comportementales liées à l’oxygène	47
4.1. Mécanismes de régulation face à l’hypoxie	48
4.2. Conséquences écologiques	54

Chapitre I - Conséquence de l'augmentation de la viscosité de l'eau sur la ventilation et le métabolisme de la sole commune (*Solea solea*, L.)..... 61

1. Introduction	71
2. Materials and methods	74
2.1. Experimental fish	74
2.2. Fluff sampling protocol.....	75
2.3. Biorheological effects of mud.....	75
2.4. Field survey of seasonal and spatial variability in water EPS content.....	80
2.5. Fluff characteristics	81
2.6. Statistics	83
3. Results	83
3.1. Biorheological effects of mud.....	84
3.2. Fluff characteristics	86
3.3. Spatial and temporal variability of EPS content	88
4. Discussion	90
4.1. Biological effects.....	90
4.2. Impact of shellfish farming facilities on mudflats characteristics and ecological implications.....	94
5. Conclusions	95
6. Acknowledgements	95

Chapitre II - Influence du niveau d'oxygénation de l'eau sur la croissance : Bioénergétique de la fonction digestive..... 99

1. Introduction	101
2. Effet de l'oxygénation de l'eau sur la croissance.....	104
2.1. Matériels et méthodes.....	104
2.2. Résultats	108
3. Effet de l'oxygénation de l'eau sur la SDA	113
3.1. Matériels et méthodes.....	113

3.2. Résultats	122
4. Discussion	125
4.1. Impact de l'oxygénation de l'eau sur la croissance.....	125
4.2. Dynamique de la digestion.....	129
5. Conclusion.....	137
Chapitre III - Interaction entre le teneur en exopolysaccharides du substrat et la tolérance à l'hypoxie chez la sole : conséquences sur la sélection de l'habitat	139
1. Introduction	147
2. Materials and methods	148
2.1. Experimental fish	148
2.2. Fluff sampling protocol.....	149
2.3. Habitat selection.....	149
2.4. Exopolysaccharides content	151
2.5. Data analyses and statistics	152
3. Results	153
3.1. Oxygen content	153
3.2. Fluff characteristics: EPS content	153
3.3. Habitat selection.....	154
4. Discussion	155
5. Acknowledgements	157
Conclusion générale	161
Références bibliographiques	167

- Liste des Figures -



Figure 1.	Surface de biodéposition autour d'une concession ostréicole.....	25
Figure 2.	Distribution mondiale des zones côtières présentant de faibles concentrations en oxygène dissous. Source : UNEP (UNEP, 2004).....	27
Figure 3.	Illustration des paramètres impliqués dans un mouvement de cisaillement.	34
Figure 4.	Schéma simplifié du système ventilatoire chez le poisson (Hughes, 1960a).....	38
Figure 5.	Voies du métabolisme aérobie et anaérobie conduisant à la production d'ATP. Source : http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/coursBC/metabo/metabo1.gif	41
Figure 6.	Example of the relationship between ΔY (yield stress) and EPS concentration for fish of equal size.....	78
Figure 7.	(a) Map of the Pertuis Charentais. (b) Satellite pictures of the Rivedoux site.....	82
Figure 8.	EPS concentration (\pm SEM) from which the four fish species tested (solenette, sole, plaice and turbot) have to increase the ventilatory work, compared to work required in sea water without EPS.....	84
Figure 9.	Percentage variation in frequency and pressure amplitude of sole opercular ventilation as a function of fluff content, under two treatments: in EPS-free condition (fluff H ₂ O ₂ -treated) and with fluff containing EPS (mg l ⁻¹); n = 6.	86
Figure 10.	Influence of water EPS and O ₂ concentration on metabolism of sole..	87
Figure 11.	Rheological properties of mud. Exponential relationship between EPS concentration (mg l ⁻¹) and viscosity (means \pm SEM, n = 32; Viscosity = 420.84 e ^{0.165EPS} ; r ² = 0.77).....	88
Figure 12.	EPS concentrations in water at the interface of seabed (mean \pm SEM) measured at 3 different scales (a) Measures realised at 4 sites in the Pertuis Charentais in oyster culture areas. (b) Measures realised at 4 sites of an oyster culture area in the Bay of Rivedoux. (c) Measures realised at the same point of an oyster culture zone at various times after the tide started to rise.	89
Figure 13.	[EPS]crit (mg.l ⁻¹) as a function of gill mass in sole (■) and turbot (□) for 3 size classes (S < 6 g, 6 < M < 12 g, L > 12 g).	92
Figure 14.	Schéma du montage expérimental de croissance. EV : électrovannes (x 4). .	106
Figure 15.	Sonde a oxygène Presens (FTC-PSt3)	107

Figure 16.	Suivi de la température (°C) au cours de l'expérience : première phase en bleu (t_0 à t_{44}) et seconde phase en rose (t_{44} à t_{77}).....	109
Figure 17.	Suivi de la teneur en oxygène de l'eau (% sat.) dans les bassin 1, 2, 3 et 4 au cours de la première phase de l'expérience (100 vs 30 %, t_0 à t_{44})..	109
Figure 18.	Suivi de la concentration en oxygène de l'eau ($\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$) dans les bassin 1, 2, 3 et 4 au cours de la seconde phase de l'expérience (100 vs 40 %).	110
Figure 19.	Taux de croissance en masse en normoxie entre le 1 ^{er} et le 44 ^{ème} jour ($M = 0,37 \text{ J} + 14,55$; $r^2 = 0,91$) puis entre le 44 ^{ème} et le 77 ^{ème} jour ($M = 0,60 \text{ J} + 4,37$; $r^2 = 0,87$), en hypoxie à 2,5 $\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ ($M = 0,11 \text{ J} + 14,62$; $r^2 = 0,75$) puis à 3,4 $\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ ($M = 0,44 \text{ J} - 0,24$; $r^2 = 0,91$).....	112
Figure 20.	Taux de croissance en longueur en normoxie entre le 1 ^{er} et le 44 ^{ème} jour ($L = 0,04 \text{ J} + 11,54$; $r^2 = 0,94$) puis entre le 44 ^{ème} et le 77 ^{ème} jour ($L = 0,06 \text{ J} + 10,66$; $r^2 = 0,90$), en hypoxie à 2,5 $\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ ($L = 0,01 \text{ J} + 11,61$; $r^2 = 0,48$) puis à 3,4 $\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ ($L = 0,05 \text{ J} + 9,73$; $r^2 = 0,88$).....	112
Figure 21.	Evolution de l'indice de condition de Fulton (K) en normoxie entre le 1 ^{er} et le 44 ^{ème} jour ($K = 0,0076 \text{ J} + 0,9567$; $r^2 = 0,91$) puis entre le 44 ^{ème} et le 77 ^{ème} jour ($K = 0,0027 \text{ J} + 1,1498$; $r^2 = 0,59$), en hypoxie à 2,5 $\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ ($K = 0,0042 \text{ J} + 0,9386$; $r^2 = 0,80$) puis à 3,4 $\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ ($K = 0,0056 \text{ J} - 0,8533$; $r^2 = 0,93$).....	113
Figure 22.	Montage expérimental de l'expérience de respirométrie sur la mesure du coût énergétique de la digestion. Dessiné par Yves Descatoire, CRELA.....	115
Figure 23.	Exemple d'un histogramme de fréquences des valeurs de métabolisme (MO_2) enregistrées au cours de la digestion d'un repas chez la sole. En encart, un exemple de d'histogramme de fréquence des MO_2 enregistrées chez la morue (Steffensen <i>et al.</i> , 1994).	118
Figure 24.	Exemple d'une distribution de fréquences cumulées des valeurs de métabolisme (MO_2) enregistrées au cours de la digestion d'un repas.	119
Figure 25.	Exemple d'une représentation graphique du SMR (-----) calculé grâce au quantile 0,1. La courbe rouge représente le modèle de régression quantile non-linéaire. L'aire délimitée par le trait noir correspond à la SDA, la dépense énergétique due à la digestion. Le <i>pic(net)</i> ou <i>pic SDA</i> correspond à la valeur maximale du métabolisme	

	minimal atteinte au cours de la digestion. La durée de la digestion est comprise entre le moment du gavage et le moment où le métabolisme minimal atteint de nouveau SMR.	121
Figure 26.	Effet de la taille du repas (0,5, 1,5 et 2,5% de masse de la sole) sur (a) la SDA ($\text{mgO}_2 \text{ kg}^{-1}$), (b) le pic de SDA ($\text{mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), (c) la durée de la digestion (h) et (d) le pourcentage de l'énergie totale contenue dans le repas utilisée pour sa propre digestion en normoxie.....	123
Figure 27.	Evolution (a) de la SDA ($\text{mgO}_2 \text{ kg}^{-1}$), (b) du pic de SDA ($\text{mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), et (c) de la durée de la digestion (h) en fonction de la concentration en oxygène dissous ($\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$) dans l'eau pour un repas de 1,5 % de la masse de la sole.	124
Figure 28.	Taux de croissance maximal mesuré au cours de notre expérience (O), taux de croissance prédit par le modèle de Fonds (1979), taux de croissance prédit par le modèle de Irvin (1973) <i>in</i> : Howell (1997).	127
Figure 29.	Valeurs de SMR, MMR et du pic de SDA comparées aux valeurs établies à partir du modèle théorique de Lefrançois et Claireaux (2003) décrivant le SMR et l'AMR en fonction de la teneur en oxygène dissous du milieu.....	130
Figure 30.	Schéma illustrant certains des processus physiologiques qui semblent contribuer à la SDA (d'après McCue, 2006).....	134
Figure 31.	Schémas illustrant quatre modèles théoriques de la place du métabolisme alloué à la digestion par rapport au métabolisme mesuré à jeun lors d'un test d'effort. ● représente le SMR à jeun et ■ le SMR de l'animal nourri. (A) Profil précédemment publié du MMR mesuré sur des animaux immobiles nourris ou sur des animaux à jeun lors d'un test d'effort (B) Priorité donnée à l'exercice. La MO_2 mesurée sur un animal en exercice et nourri ne se distingue pas de la MO_2 mesurée sur un animal en exercice à jeun. (C) Priorité donnée à la digestion. Le coût métabolique de la digestion est maintenu durant l'exercice, diminuant la performance. (D) Additivité. Le coût métabolique de la digestion est maintenu durant l'exercice et MMR est augmenté d'autant. (Bennett et Hicks, 2001)	136
Figure 32.	Experimental set-up.....	150

Figure 33. Exopolysaccharides concentration in water at the interface with seabed for both compartments of tanks A and B. Stars indicate significant differences..... 153

Figure 34. Percentage of fish occurrence on sandy substratum in both tanks A and B in normoxic water..... 154

Figure 35. Percentage of fish occurrence on sandy substratum in both tanks A and B in hypoxic water (34-39 % air saturation)..... 155

- Listes des Tableaux -



Tableau 1.	Résultats des ANCOVA comparant deux à deux les taux de croissance en masse en fonction des traitements.....	111
Tableau 2.	Résultats des ANCOVA comparant deux à deux les taux de croissance en longueur en fonction des traitements..	111
Tableau 3.	Experimental data collected for every 6 groups of 8 fish.	152

- Avant-propos -



Cette étude s'inscrit dans un projet international intitulé « **Effect of Turbidity and Hypoxia On the behaviour of coastal marine FISHes** » (ETHOFISH). Ce projet mené durant 3 ans (2003-2005) réunissait 5 laboratoires : *International Marine Centre* (IMC) Torreggrande, Italy ; *Scottish Association for Marine Science*, Dunstaffnage Marine Laboratory (SAMS) UK ; *Marine Biological Laboratory*, Université de Copenhague, Danemark ; *Department of Fisheries and Marine Biology*, Université de Bergen, Norvège ; ainsi que le *Centre de Recherche en Ecologie Marine et Aquaculture* (CREMA) L'Houmeau, France. Il a été financé par la Direction Générale des Pêches de la Commission Européenne (QLRT – 2001 – 00799).

Le projet Ethofish se proposait d'évaluer l'impact de 2 phénomènes récurrents en milieu côtier et qui sont liés aux activités humaines, l'augmentation de la turbidité de l'eau et la réduction de la disponibilité en oxygène sur 3 composantes cruciales des interactions entre les poissons et leur environnement : la sélection d'habitat, la relation prédateur-proie et la nage en banc. L'étude reposait sur deux principes, à savoir (1) que le seuil auquel une contrainte devient « écologiquement active » est atteint à un niveau inférieur au seuil léthal et (2) que le bien-être des poissons côtiers est déterminé par leur capacité à sélectionner des habitats appropriés et à rechercher leurs proies.

Le projet Ethofish avait pour objectifs :

- de développer une méthodologie intégrative afin d'évaluer *in situ* les effets de la turbidité et de l'hypoxie sur la physiologie des poissons et/ou leurs performances comportementales,
- déterminer expérimentalement les seuils à partir desquels les niveaux d'oxygène et de turbidité sont susceptibles d'altérer les performances physiologiques et/ou comportementales des poissons.
- enfin, développer des outils de modélisation pour faciliter la gestion des risques environnementaux liés à la turbidité et l'hypoxie.

Les espèces ciblées par cette étude étaient la plie *Pleuronectes platessa*, le hareng *Harengus harengus*, la morue *Gadus morhua*, le mullet à grosse tête *Mugil cephalus* et la sole *Solea solea*.

Dans ce contexte, mon projet de thèse a consisté à étudier l'impact de la teneur en matière organique de l'eau et de l'hypoxie sur la bioénergétique et la sélection d'habitat de juvéniles de soles. Pour cela, je me suis appuyée à la fois sur des mesures *in situ* et sur des expériences en laboratoire.

Ce projet a pu être mené à bien grâce à la participation financière du projet européen *ETHOFISH*, du *Conseil Général de Charente Maritime* qui m'a accordé une bourse de thèse, du laboratoire *CREMA (CNRS – IFREMER)* puis *CRELA (CNRS – IFREMER – Université de La Rochelle)* qui m'a hébergé, enfin de la *Society of Experimental Biology*, la *Company of Biologists* et du *Fond Social Européen (FSE)* qui m'ont permis de participer à plusieurs congrès internationaux.



- Introduction générale -



Situés à l'interface continent-océan, les écosystèmes côtiers subissent à la fois la pression anthropique due à l'urbanisation croissante, l'expansion du tourisme, l'agriculture non raisonnée, l'aquaculture, la pêche, le trafic maritime et l'accumulation de polluants rejetés par les fleuves et les rivières (EEA, 1999). Parmi ces facteurs, l'impact de l'aquaculture est généralement limité géographiquement. Toutefois, l'aquaculture est amenée à se développer dans les années qui viennent. En effet, la dégradation des habitats, ainsi que la surexploitation, ont contribué à la chute des stocks naturels et l'aquaculture est généralement présentée comme une alternative pour couvrir les besoins alimentaires d'une population humaine en expansion rapide (FAO, 2002). En 2004, les activités de production aquacoles animales et végétales ont généré 45,5 millions de tonnes de produits issus de la mer. Il a été estimé que pour maintenir la consommation mondiale *per capita*, l'aquaculture devrait produire 80 millions de tonnes en 2050 (FAO, 2007). Or, le développement de l'aquaculture impliquerait notamment d'étendre les surfaces exploitées et par conséquent une possible aggravation des problèmes écologiques inhérents à ce type d'activité.

L'aquaculture regroupe la production de poissons¹, de crustacés, de mollusques et de végétaux. L'ampleur de l'impact écologique de l'aquaculture varie en fonction du type de culture, cependant des tendances générales se dégagent des nombreuses études menées sur le sujet. La principale conséquence de l'aquaculture est l'accumulation de matières organiques à proximité des installations aquacoles (Kaiser, 2001). Le regroupement d'un grand nombre d'animaux sur une surface relativement réduite entraîne la concentration des déchets produits par les animaux. Dans le cas de la pisciculture et de l'élevage des crustacés, l'enrichissement

¹ En classification classique, basée sur des caractéristiques anatomiques, les poissons osseux sont désignés par la super-classe des Ostéichthyens. Toutefois, cette classification tend à être remplacée par la classification phylogénétique, basée sur les séquences ADN et l'analyse cladistique. Dans celle-ci, le clade des Ostéichthyens regroupe les poissons osseux, les batraciens, les reptiles et les mammifères. Les poissons sont donc représentés par l'infra-classe des Téléostéens. Le terme poisson n'a pas sa place dans cette organisation du monde vivant. Cependant, afin de simplifier la compréhension du texte, le terme « poisson » a été utilisé dans ce manuscrit afin de désigner les téléostéens.

du milieu provient à la fois de la production de fèces mais également de l'accumulation de nourriture non consommée. Dans le cas de la conchyliculture, l'accumulation de matière organique sur le fond provient du processus de filtration des bivalves. En effet, l'élevage des bivalves ne nécessite pas d'apports allogènes de nourriture, ces organismes filtrent l'eau pour se nourrir. Au cours de ce processus, les particules en suspension dans l'eau sont retenues par les branchies, enrobées dans du mucus puis acheminées jusqu'aux palpes labiaux afin d'être triées. Les particules ne possédant pas de valeur nutritive (matière minérale essentiellement) ne sont pas ingérées mais directement rejetées dans le milieu sous forme de pseudofèces (Jørgensen, 1990). *A contrario*, les particules de nourriture sont ingérées et la fraction non digestible est rejetée sous forme de fèces. Le taux de filtration de l'huître a été estimé à $4 \text{ l g}_{\text{sec}}^{-1} \text{ h}^{-1}$ dans une eau à $12 \text{ }^{\circ}\text{C}$ (Bougrier *et al.*, 1995) et celui de la moule à $11 \text{ l g}_{\text{sec}}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Petersen *et al.*, 2004). Dans les zones conchylicoles, de grands volumes d'eau sont donc filtrés par les bivalves, entraînant la précipitation sur le fond d'une grande quantité de matière organique (Fig. 1). Dans les pertuis charentais, le plus vaste secteur de production conchylicole européen, la surface de vasières intertidales dédiée à cette activité est de plus de 2800 ha (Malet, 2005). Dans cette zone, la conchyliculture génère plus de 6 t (masse sèche) de biodépôts par hectare cultivé et par jour durant les périodes de filtration intense (Sornin *et al.*, 1986). Cette biodéposition favorise le développement des bactéries et du microphytobenthos, particulièrement les diatomées (Barillé et Cognie, 2000). Les diatomées sécrètent une couche de mucilage (Decho, 1990). Cette couche de biodépôts et de mucilage est constituée de substances polymériques extracellulaires comprenant des exopolysaccharides (EPS). Les EPS sont des molécules à longues chaînes organisées en colloïdes et sont connues pour modifier les propriétés rhéologiques de l'eau, particulièrement la viscosité (Jenkinson, 1986). La viscosité de l'eau de mer est de $1,228 \cdot 10^{-3} \text{ Pa s}$ à $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ et 20 ‰ de salinité (Miyake et Koizumi, 1948). Additionnée d'EPS, l'eau de mer peut être 400 fois plus visqueuse (Jenkinson, 1986). Or, il a été démontré que l'augmentation de la viscosité de l'eau (gélification) due aux EPS entraînait une modification des caractéristiques de l'écoulement de l'eau dans la cavité branchiale des poissons (Jenkinson et Arzul, 1998; Jenkinson et Arzul, 2002). Récemment, Jenkinson *et al.* (2007) ont démontré l'effet notoire des propriétés rhéologiques de l'eau sur le flux ventilatoire chez la sole (*Solea solea*). La

résistance interne du fluide (viscosité) induite par les propriétés gélifiantes des EPS modifiait de manière significative le débit d'eau à travers les branchies de la sole. Au dessus d'un certain seuil, l'écoulement de l'eau était totalement stoppé. Les résultats recueillis suggèrent que l'augmentation de la viscosité de l'eau pourrait modifier la capacité des juvéniles à subvenir à leurs besoins en oxygène. En effet, la circulation de l'eau dans les espaces interlamellaires des branchies conditionne la capacité de diffusion de l'oxygène de l'eau vers le sang. Or l'augmentation de la viscosité de l'eau due aux EPS, est de nature à perturber le renouvellement de l'eau sur les branchies et ainsi la quantité d'oxygène qui diffuse à travers l'épithélium branchial.



Figure 1. Surface de biodéposition autour d'une concession ostréicole. L'auréole verte autour de la concession représente le film microalgal qui s'est développé fortement sur la zone enrichie en matières organiques (Photo de James Germaneau).

Au cours des dernières décennies, la réduction de la concentration en oxygène dans les eaux côtières s'est amplifiée. De plus, ce phénomène, l'hypoxie, est devenu un problème récurrent dans le monde entier (Fig. 2 ; (Diaz et Rosenberg, 1995; EEA, 1999; Gray *et al.*, 2002; Wu, 2002; UNEP, 2004). L'étendue spatiale et temporelle des épisodes hypoxiques rapportés dans la littérature est considérable. Par exemple, une étude réalisée en mer de Chine Orientale a mis en évidence une couche hypoxique profonde ($< 2-3 \text{ mg l}^{-1}$) couvrant près de 12 000 km² (Chen *et al.*, 2007). Une série temporelle réalisée dans les zones conchylicoles des pertuis charentais montre que la concentration en oxygène dissous peut descendre en dessous de 40 % de saturation durant 10 jours, dont 72 h en dessous de 20 % de saturation (Bouchet *et al.*, 2007). Cette concentration en oxygène est létale pour plusieurs espèces de poissons.

Bien que des évènements hypoxiques et anoxiques aient été constatés à l'échelle des temps géologiques, la fréquence de ces évènements a récemment augmenté, très probablement en relation avec l'intensification des activités humaines le long des côtes et dans les estuaires (Diaz et Rosenberg, 1995). Ces activités engendrent des apports excessifs de nutriments dont la dégradation consomme de l'oxygène. Sans apport allochtone en oxygène ce processus de minéralisation des nutriments conduit à une baisse de la concentration en oxygène dans le milieu. L'accumulation de matière organique dans les zones ostréicoles participe donc au processus général qui contribue à la baisse de la disponibilité en oxygène pour les organismes marins en zones côtières. Or, le niveau d'oxygénation de l'eau est, avec la température, le facteur qui influence le plus la physiologie et les performances des poissons (Schmidt-Nielsen, 1998).

Le long du littoral atlantique, les vasières intertidales qui sont exploitées par la conchyliculture, sont également des sites de nourricerie essentiels pour de nombreuses espèces de poissons, dont la sole commune *Solea solea* (Le Pape, 2003). La sole est une ressource économique importante. A l'échelle nationale, plus de 7000 tonnes de sole commune ont été mises sur le marché en 2005 pour une valeur totale de près de 78 M€. A l'échelle locale, en Poitou-Charentes, 790 tonnes ont été commercialisées en 2005 pour une valeur de 9 M€ (OFIMER, 2006).

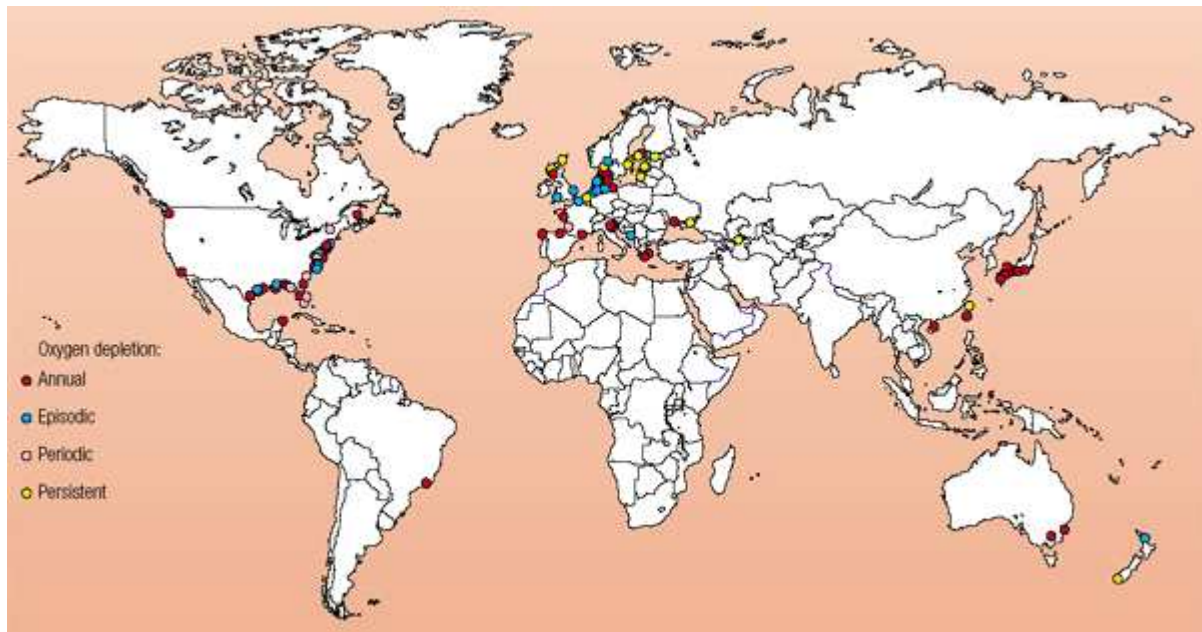


Figure 2. Distribution mondiale des zones côtières présentant de faibles concentrations en oxygène dissous. Les 146 zones indiquées sont associées soit à une forte densité de population soit à des bassins versants qui drainent des quantités élevées de nutriments dans les eaux côtières. (*Annual* – évènements annuels liés à la stratification des eaux à l’automne et au printemps ; *Episodic* – évènements intervenant à intervalle irrégulier, moins d’une fois par an ; *Periodic* – évènements intervenant à intervalle régulier plus d’une fois par an ; *Persistent* – hypoxie permanente) Source : UNEP (UNEP, 2004).

La sole pond ses œufs au large alors que les juvéniles se développent en zones côtières. Dans les zones où il existe de forts courants marins, les zones de ponte sont situées en amont des nourriceries (Gibson, 1997). Les œufs et les larves dérivent avec le courant jusqu’aux nourriceries. De par leur taille, les larves ont un pouvoir de locomotion limité qui ne leur permet pas de se déplacer à contre courant. Cependant, la présence d’une vessie natatoire laisse supposer qu’elles sont capables de mouvements verticaux (Lagardère *et al.*, 1999). En effet, les larves montrent un comportement de migration verticale périodique à partir de 15-20 jours après l’éclosion, dont l’amplitude s’intensifie à mesure que la larve grandit (Champalbert et Koustikopoulos, 1995). Les migrations périodiques verticales combinées à l’alternance des courants de marée permettraient aux larves de se déplacer

horizontalement sur des distances suffisamment grandes pour rejoindre les zones de nourricerie côtières. Cependant, certaines études n'ont montré aucune évidence d'un transport actif des larves, ni même passif, les courants barotropes du golfe de Gascogne ne permettant pas l'advection systématique des larves vers la côte (Koustikopoulos *et al.*, 1991). La majorité des larves se métamorphoseraient donc en mer où elles se déposeraient sur des fonds impropres à leur développement et ne rejoindraient jamais la nourricerie côtière. Cette partie de la population ne participerait pas au stock de géniteurs. Seules des conditions de vent appropriées seraient à même d'engendrer des courants marins favorables qui permettraient à un faible pourcentage de larves de rejoindre la nourricerie côtière (12 %). Une métamorphose ponctue l'ontogénie. Pour certains auteurs, elle intervient lorsque la larve atteint de 3 à 20 mm (Osse et Van den Boogaart, 1997), pour d'autres elle intervient à taille fixe, 8,5 mm, quelque soit son âge (de 20 à 40 jours) (Amara et Lagardère, 1995). Elle dure approximativement 10 jours (Amara *et al.*, 1999). Avant la métamorphose, la larve de sole est planctonique et symétrique. A la métamorphose, des modifications anatomiques interviennent telles que la migration de l'œil gauche vers la face zénithale (droite) de l'animal ou l'inflation de la vessie gazeuse (Amara *et al.*, 1999). Ces modifications sont concomitantes à des changements comportementaux dont le changement d'habitat : de larve pélagique, le juvénile devient démersal. Après la métamorphose, la qualité du substrat est donc capitale pour les poissons plats. Plus largement, au cours de la phase de colonisation des nourriceries côtières, la survie des soles dépend de 3 facteurs principaux (Miller *et al.*, 1991). La survie des larves et des juvéniles relève tout d'abord de facteurs environnementaux abiotiques (température, oxygénation de l'eau, salinité). Elle est également conditionnée par la présence de types de proies adaptées à leur régime alimentaire et en nombre suffisant pour soutenir leur croissance, ainsi que par la présence de prédateurs (Amara *et al.*, 1994).

Dans ce contexte, l'objectif de mon étude était d'évaluer l'impact de l'exploitation conchylicole (caractéristiques physico-chimiques et biorhéologiques de l'eau) sur la physiologie, les performances adaptatives et la sélection de l'habitat chez la sole commune *Solea solea* (Linnaeus, 1758). Pour cela, j'ai notamment examiné les effets d'une

augmentation de la viscosité de l'eau ou d'une réduction de la concentration en oxygène de l'eau.

Ce manuscrit s'organise en 4 parties. La première partie de ce document présente un état des connaissances concernant tout d'abord les propriétés rhéologiques de l'eau de mer ainsi que les processus physiques liés à la circulation de l'eau dans la cavité branchiale des poissons. Par la suite, je me suis intéressée au mécanisme de la ventilation en milieu aquatique et aux liens avec le métabolisme. Enfin j'ai examiné les conséquences physiologiques et comportementales de la variation de la disponibilité en oxygène dans le milieu.

Dans la seconde partie (Chap. 1, p. 57), je me suis intéressée aux conséquences de l'augmentation de la viscosité de l'eau sur la ventilation, le métabolisme et la tolérance à l'hypoxie de la sole. J'ai également comparé les résultats obtenus chez la sole à ceux obtenus chez d'autres espèces de pleuronectiformes (poissons plats).

Dans la troisième partie (Chap. 2, p. 95), j'ai étudié les conséquences d'une limitation de la disponibilité en oxygène sur le métabolisme de la digestion chez la sole, puis les conséquences de cette limitation sur la croissance.

En dernier lieu, dans la quatrième partie (Chap. 3, p. 135) de ce manuscrit, j'ai examiné l'impact combiné d'une augmentation de la viscosité et d'une baisse de l'oxygénation de l'eau sur le comportement de la sole, particulièrement la sélection d'habitat.

- Etat de l'art -



Cette partie est consacrée à l'exposé des connaissances concernant tout d'abord les propriétés rhéologiques de l'eau de mer ainsi que les processus physiques liés à la circulation de l'eau dans la cavité branchiale des poissons. J'y ai ensuite détaillé les mécanismes de la ventilation en milieu aquatique et ses liens avec le métabolisme. Enfin, j'ai exposé les conséquences physiologiques et comportementales de la disponibilité en oxygène dans le milieu.

1. Rhéologie

1.1. Définitions

La rhéologie étudie la plasticité, l'élasticité, la viscosité et la fluidité des corps déformables (Barnes *et al.*, 1989). La contrainte classiquement étudiée par la rhéologie est le cisaillement. Le corps étudié est placé entre deux surfaces dont l'une est mobile et l'autre, immobile (plan fixe). Dans ces conditions les forces appliquées sont de sens opposé et sont tangentiels à la surface du corps. Le cisaillement exercé sur l'échantillon se définit alors par deux grandeurs, la vitesse et la contrainte de cisaillement. Prenons le cas d'une feuille d'aluminium d'aire S posée sur un fluide d'épaisseur h (par ex. du miel). Ce fluide est lui-même déposé sur un plan fixe (Fig. 3). Si on exerce sur la feuille d'aluminium une force \vec{F} parallèle au plan fixe, on peut alors démontrer que la vitesse de déplacement de la feuille (v_0) est proportionnelle à \vec{F} et h , mais est inversement proportionnelle à S . Le rapport \vec{F} sur S correspond à la contrainte de cisaillement (τ) :

$$\tau = \frac{\vec{F}}{S} \quad \text{Eq. 1}$$

avec τ en Pascal, \vec{F} en Newton, S en m^2 (Mezger, 2002). L'application de la force \vec{F} induit un flux laminaire entre la feuille d'aluminium et le plan fixe. Lorsque la vitesse v_0 n'est pas

trop élevée, il existe un gradient vertical de vitesse au sein du fluide. Les molécules de fluide directement en contact avec la feuille d'aluminium se déplacent à la même vitesse que celle-ci. Ce mouvement (énergie cinétique) se transmet en partie aux couches profondes du fluide via les forces de Van der Waals qui lient les molécules de fluide entre elles. Plus les forces d'interaction sont fortes, c'est-à-dire plus le fluide est visqueux et plus la vitesse décroît rapidement au sein du fluide jusqu'à devenir nulle au niveau du plan fixe ($v = 0$). Le gradient de vitesse dépend de la contrainte de cisaillement appliquée et de la nature du fluide. La vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ correspond à la vitesse v d'une molécule de fluide relativement à sa hauteur z dans la couche de fluide. Dans un fluide newtonien à flux laminaire, $\dot{\gamma}$ est constant quel que soit la hauteur z .

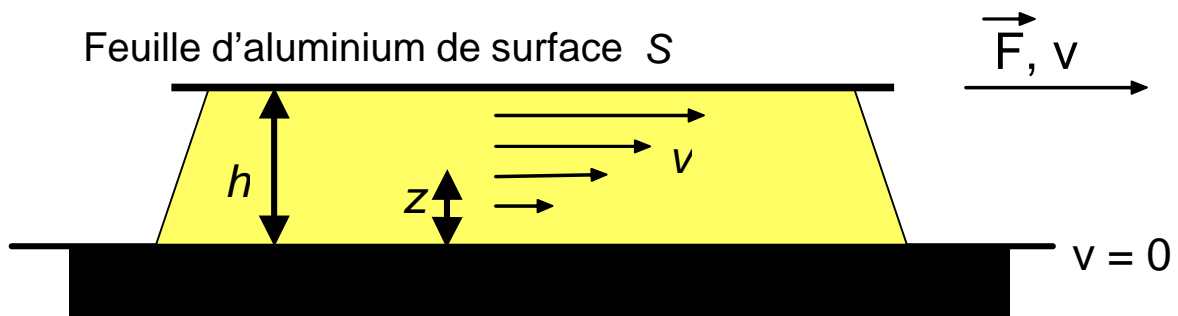


Figure 3. Illustration des paramètres impliqués dans un mouvement de cisaillement.

Deux types de viscosité peuvent être calculées, la viscosité dynamique et la viscosité cinématique. La viscosité dynamique μ (Pa s) correspond à la contrainte de cisaillement (τ) divisée par la vitesse de cisaillement ($\dot{\gamma}$) :

$$\mu = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad \text{Eq. 2}$$

La viscosité cinématique ν ($\text{m}^2 \text{s}^{-1}$) correspond à la viscosité dynamique du fluide considéré rapportée à sa masse volumique ρ . Le terme viscosité, comme on l'utilise couramment correspond à la viscosité dynamique. Selon le fluide (gaz ou liquide), la viscosité dynamique

est influencée différemment par la pression et la température. Dans le cas d'un liquide, l'influence de la pression est négligeable alors que celle de la température est importante. Pour l'eau douce, la viscosité tend à diminuer lorsque la température augmente, $\mu = 1.008 \cdot 10^{-3}$ Pa s à 20°C et $0.660 \cdot 10^{-3}$ Pa s à 40°C.

1.2. Comportements rhéologiques

A température et pression constante, un fluide est dit newtonien si sa viscosité dynamique (μ) est constante quelle que soit la contrainte appliquée. On dit que le fluide est parfait ou linéaire (cas des gaz et liquides purs).

Parmi les fluides non-newtoniens, c'est-à-dire dont μ varie en fonction de la contrainte appliquée, il existe deux catégories, ceux dont μ varie au cours du temps et ceux dont μ ne varie pas au cours du temps (Mezger, 2002). Dans la première catégorie, les fluides rhéofluidifiants montrent une viscosité qui diminue avec la contrainte alors que les rhéoépaississants montrent une viscosité qui s'accroît avec la contrainte. Dans cette dernière catégorie, les corps plastiques sont caractérisés par une contrainte de cisaillement seuil τ_c en dessous de laquelle le fluide ne s'écoule pas. Autrement dit, lorsque les fluides plastiques sont soumis à une très faible contrainte, leur viscosité est si forte qu'ils ne peuvent s'écouler. Leur viscosité diminue ensuite si une contrainte supérieure au seuil est appliquée. Souvent, le comportement des fluides non newtoniens varie en fonction du temps car les modifications de structures moléculaires ne sont pas instantanées. Si on applique des valeurs de vitesse de cisaillement assez fortes pendant assez longtemps, la structure est modifiée durablement et le comportement du produit est affecté. Un fluide est thixotrope si, à vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ constante, sa viscosité diminue au cours du temps et si le phénomène est réversible.

1.3. Eau de mer et rhéologie

L'eau de mer est un fluide newtonien dont la viscosité varie en fonction de la température et de la salinité (Miyake et Koizumi, 1948). A 15 °C, elle varie de $1,143 \cdot 10^{-3}$ Pa s pour l'eau douce, à $1,228 \cdot 10^{-3}$ Pa s à 20 ‰ de salinité. Sa viscosité est indépendante de la vitesse de cisaillement. Toutefois, dans le milieu naturel, l'eau de mer contient des composés organiques qui modifient les propriétés rhéologiques de l'eau de mer « pure ». Par exemple, additionnée de sécrétions exopolymériques phytoplanctoniques (EPS), l'eau de mer est plus visqueuse et possède des propriétés élastiques (Jenkinson, 1986). De plus, en présence d'EPS, la viscosité est corrélée à la vitesse de cisaillement. Cette relation présente un point d'inflexion indiquant que l'eau de mer contenant des EPS possède un seuil d'écoulement. Plus précisément, il existe une contrainte (pression) minimale en dessous de laquelle la force appliquée n'est pas suffisante pour que le liquide s'écoule. En dessous du seuil d'écoulement, les forces de Van der Waals qui lient les molécules de fluide entre elles offrent une résistance supérieure à la force appliquée. Les EPS confèrent également à l'eau de mer un caractère thixotrope (Coussot, 1997).

2. Ventilation

Après avoir caractériser le comportement rhéologique de l'eau de mer, j'ai examiné les spécificités de la respiration dans ce milieu.

Chez les poissons, l'appareil branchial assure l'extraction de l'oxygène du milieu environnant. Les molécules d'oxygène traversent l'épithélium des lamelles branchiales, de l'eau vers le sang, par simple diffusion le long d'un gradient de pression partielle. Afin

d'éviter que la fine couche d'eau en contact avec les lamelles branchiales ne s'appauvrisse en oxygène, son renouvellement est assuré par la ventilation.

La ventilation des poissons a fait l'objet de nombreux travaux, dont une part significative a été menée par G. M. Hughes (Hughes et Shelton, 1958; Hughes, 1960a; Hughes, 1960b; Ballintijn et Hughes, 1965; Hughes et Ballintijn, 1965). Cet auteur a été le premier à représenter le système respiratoire du poisson sous la forme de deux cavités, chacune étant équipée d'une pompe à piston : la bouche et la cavité operculaire. Ce système de pompes placées de part et d'autre du rideau branchial crée un flux unidirectionnel et continu d'eau à la surface des branchies (Fig. 4). La ventilation se déroule en deux phases (Brainerd et Ferry-Graham, 2006). La phase de succion débute par l'expansion de la cavité buccale suivie de celle de la cavité branchiale. La dépression induite dans la bouche puis dans la chambre operculaire provoque l'entrée d'eau dans la bouche et son transit vers la chambre operculaire à travers les filaments branchiaux. Le mouvement de l'eau se poursuit au cours de la phase de pression. Cette phase débute par la compression de la cavité buccale alors que la cavité branchiale continue son expansion. Une fois la compression maximale de la cavité buccale atteinte, un flux unidirectionnel est maintenu par la compression de la cavité branchiale pour évacuer l'eau à travers l'opercule.

La ventilation en milieu aquatique diffère de la ventilation aérienne en raison des propriétés physiques et chimiques que présentent ces deux milieux. L'eau possède une forte densité (1 kg l^{-1} , ~ 800 fois plus que l'air), une forte viscosité (10^{-3} Pa s , 50 fois celle de l'air), mais contient peu d'oxygène dissous, 10 mg l^{-1} pour l'eau douce et $8,4 \text{ mg l}^{-1}$ pour l'eau de mer à $15 \text{ }^\circ\text{C}$, c'est-à-dire 2800 fois moins que l'air (280 g l^{-1}) (Schmidt-Nielsen, 1998). Ces caractéristiques physiques de l'eau imposent des contraintes sur la ventilation des organismes aquatiques qui n'existent pas chez les organismes terrestres. L'organisme doit pouvoir extraire de manière efficace la faible quantité d'oxygène que contient l'eau. L'appareil branchial présente donc une grande surface afin de faciliter les échanges entre le sang et le

milieu. De plus, la mise en mouvement de l'eau, 50 fois plus dense, impose aux organismes aquatiques un travail ventilatoire beaucoup plus important que chez les organismes à respiration aérienne. Sur cette base, il est classiquement admis que pour minimiser le travail ventilatoire, l'écoulement du fluide doit être lent et constant (Lois de Newton). En effet, les variations de vitesse (accélération et la décélération) du fluide dans la cavité bucco-branchiale demanderaient un investissement d'énergie important en raison de sa densité (masse par unité de volume). C'est pourquoi, une fois mis en mouvement, l'écoulement du fluide à vitesse constante est plus « économique ». De plus, en raison de la viscosité de l'eau, l'énergie nécessaire pour maintenir une vitesse élevée serait considérable en raison de la résistance (viscosité) au mouvement qu'oppose le fluide.

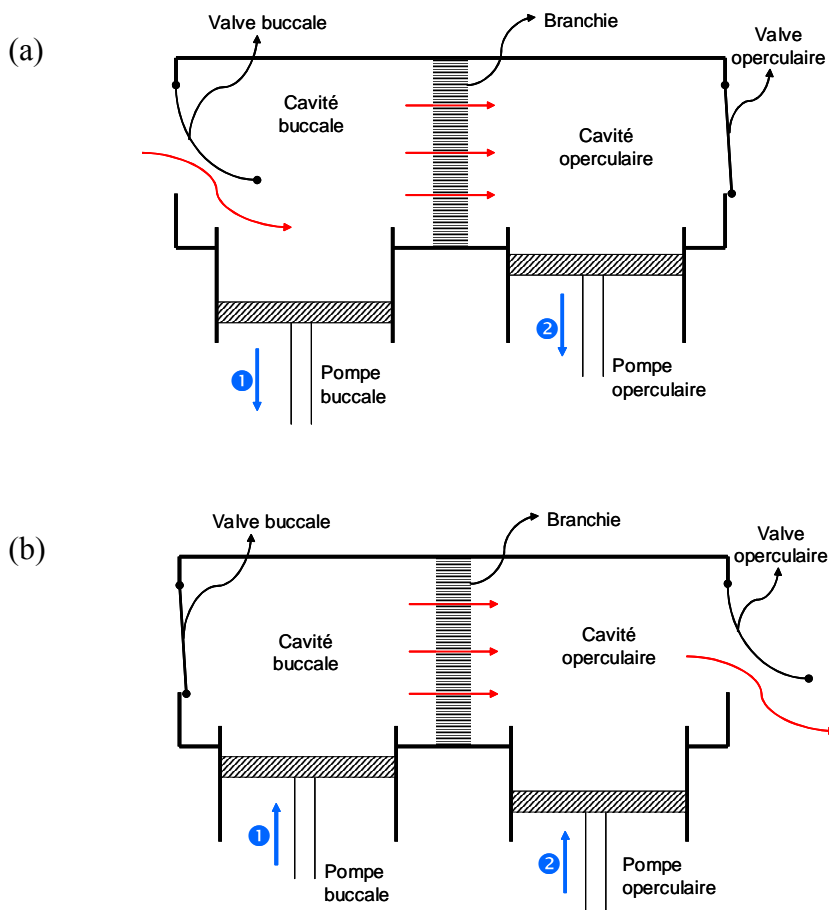


Figure 4. Schéma simplifié du système ventilatoire chez le poisson (Hughes, 1960a)

3. Bioénergétique

La bioénergétique étudie les processus par lesquels les organismes acquièrent, transforment, accumulent et libèrent de l'énergie. L'énergie est acquise sous forme de nourriture ingérée (glucides, protéines, lipides). Elle est transformée en ATP au cours de **processus métaboliques**, puis répartie pour la réalisation des diverses fonctions physiologiques (par ex. croissance, reproduction, activité musculaire ou nerveuse). La répartition de l'énergie au sein de l'organisme est fonction des **contraintes environnementales** que subit l'organisme et qui gouvernent ses besoins.

3.1. Processus métaboliques, production d'ATP et oxygène

Le métabolisme désigne l'ensemble des réactions physico-chimiques cellulaires. Il comprend deux composantes : catabolisme et anabolisme. L'anabolisme correspond à la part du métabolisme qui participe à la synthèse de molécules complexes à partir de molécules simples (ex : synthèse protéique). Le catabolisme regroupe les voies métaboliques qui participent à la dégradation de molécules complexes en molécules d'adénosine triphosphate (ATP). L'ATP est un nucléotide constitué d'une adénosine (base azotée + adénine + β -D-ribofurannose) et de 3 groupements phosphate. Les liaisons reliant les 3 groupements phosphate à l'adénosine sont des liaisons anhydrides acides riches en énergie. La réaction d'hydrolyse de l'adénosine triphosphate en adénosine diphosphate et phosphate inorganique ($\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$) est une réaction exergonique dont la variation d'enthalpie libre standard est de -30 kJ mol^{-1} . La réaction d'hydrolyse de l'ATP en adénosine monophosphate (AMP) libère, quant à elle, 42 kJ mol^{-1} . L'énergie stockée dans les liaisons phosphate est utilisée dans l'organisme pour fournir de l'énergie aux réactions chimiques qui en consomment.

Il n'existe pas de stock de molécules d'ATP dans l'organisme. C'est pourquoi en principe, l'ATP est produite en permanence. Seuls les intermédiaires de la chaîne de production d'ATP sont mis en réserve et hydrolysés en fonction des besoins (glycogène, triglycérides, protéines). Le glucose, par exemple, est stocké sous forme de glycogène. La première étape de production d'ATP par voie métabolique aérobie, est la glycolyse. La glycolyse est une suite de réactions d'oxydo-réduction qui se déroulent dans le hyaloplasme de la cellule et dont le produit final est le pyruvate (Fig. 5). Il est ensuite décarboxylé pour former de l'acétylcoenzyme A. L'acétyl-CoA est l'intermédiaire commun de dégradation des glucides, des acides aminés et des acides gras. Cette molécule alimente le cycle de Krebs (ou cycle de l'acide citrique). Les réactions du cycle de Krebs se déroulent dans la matrice mitochondriale. Au cours des réactions de la glycolyse et du cycle de Krebs, des coenzymes sont réduits (10 moles de NADH et 2 de FADH₂). Ils seront ensuite recyclés. Pour cela, ils sont réoxydés grâce à la chaîne respiratoire, au niveau de la membrane interne de la mitochondrie chez les eucaryotes. Bien que les réactions de glycolyse et du cycle de Krebs soient anaérobies, la chaîne respiratoire nécessite de l'oxygène (aérobie). Au cours des réactions en chaîne de la chaîne respiratoire, l'ADP est phosphaté en ATP et l'oxygène joue le rôle d'accepteur final d'électron. Après réoxydation des coenzymes réduits, 38 moles d'ATP sont produites par mole de glucose grâce au métabolisme aérobie. L'oxygène est donc indispensable au métabolisme aérobie afin de fournir l'énergie nécessaire au fonctionnement de l'organisme. Toutefois, lorsque la quantité d'oxygène disponible est limitée ou inexistante, la production d'ATP est alors assurée par la voie métabolique anaérobie, la fermentation lactique, qui ne nécessite pas d'oxygène. Dans ce cas, lors de la régénération du NADH en NAD⁺, l'accepteur final d'électron est le pyruvate issu de la glycolyse (pyruvate + NADH → lactate + NAD⁺). Ainsi, la transformation d'une mole de glucose fournit 2 moles d'ATP ainsi que 2 moles d'acide lactique ou éthylique. Cependant, la voie de production d'énergie anaérobie est 19 fois moins efficace que la voie aérobie. Par conséquent, lorsque l'oxygénation du milieu n'est pas adéquate pour approvisionner le métabolisme aérobie, la marge de manœuvre énergétique des organismes diminue rapidement. Ils ne sont plus alors à même d'assurer leurs fonctions musculaires ou nerveuses de manière aussi efficace qu'en

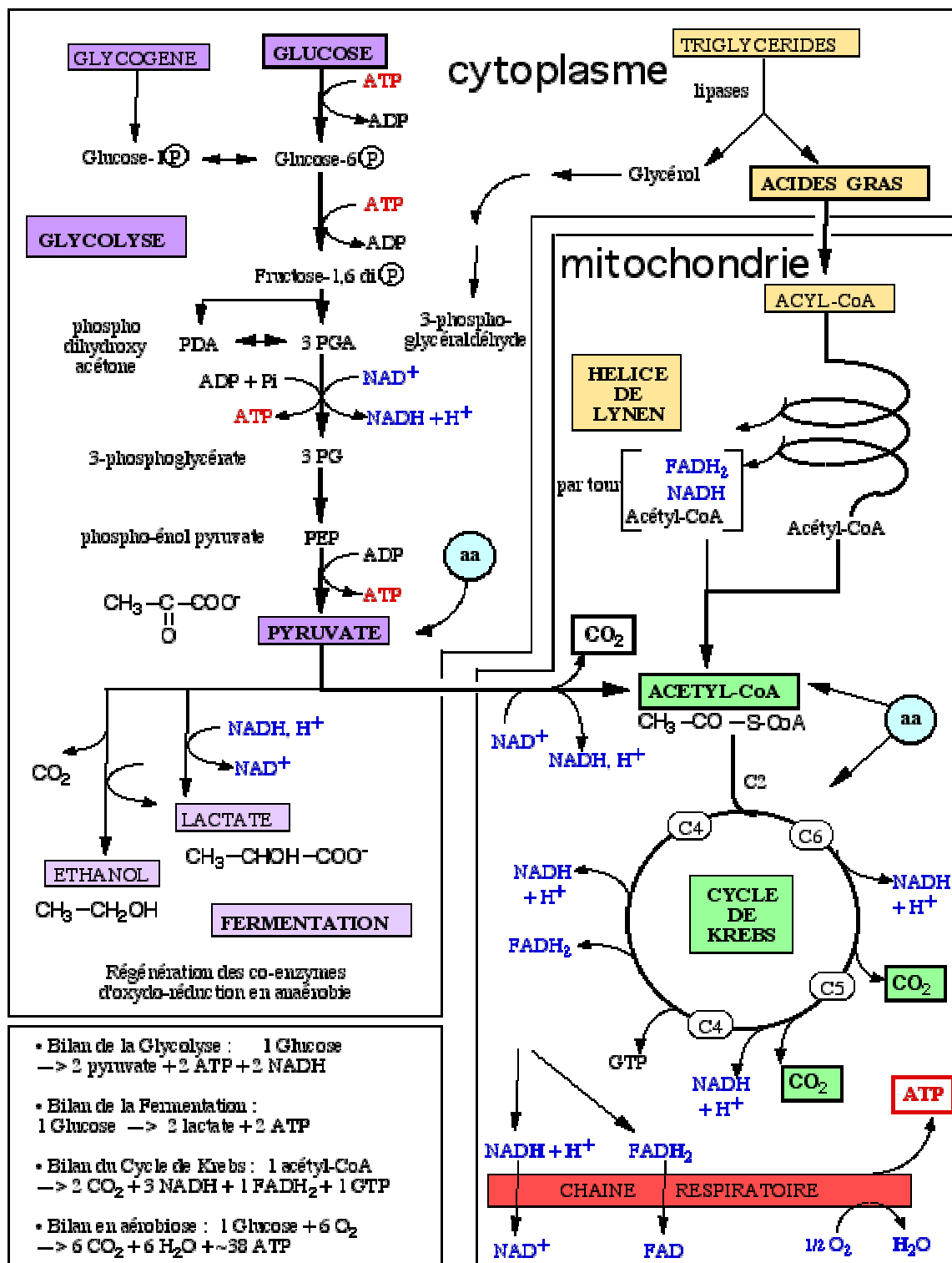


Figure 5. Voies du métabolisme aérobie et anaérobie conduisant à la production d'ATP. Source : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/coursBC/metabo/metabo1.gif>

présence d'oxygène. A terme, ces limitations physiologiques sont de nature à altérer la survie du poisson.

Il est très difficile de mesurer directement le métabolisme énergétique d'un organisme, c'est-à-dire sa consommation d'ATP. Cependant, plusieurs méthodes indirectes permettent d'approcher cette valeur. La première consiste à calculer la différence de valeur énergétique entre les aliments ingérés et les produits de dégradation excrétés (féces, urine). Cette méthode présuppose que l'animal soit en état stable c'est-à-dire qu'il ne subisse pas de variations de ses réserves énergétiques (pas de stockage ou de consommation). Plus précisément, le bilan énergétique serait surestimé si une fraction de l'énergie ingérée était mise en réserve au cours de la mesure, car la valeur énergétique des produits de dégradation serait sous-estimée. De même, le bilan énergétique serait sous-estimé si une part de l'énergie des produits de dégradation provenait de la mobilisation des réserves. De plus, la mobilisation des réserves énergétiques et la mise en réserve engendrent un coût énergétique qui participe au biais de la mesure. La seconde méthode consiste à déterminer la production totale de chaleur par l'organisme. En effet, la production d'ATP due à l'oxydation d'1 mole de glucose s'accompagne d'un dégagement de chaleur théorique de -1694 kJ. Il est donc possible d'évaluer la production d'ATP à partir de l'énergie dégagée par l'organisme sous forme de chaleur. Toutefois, il est difficile techniquement d'appliquer ces deux premières méthodes à des animaux aquatiques. La troisième technique consiste à mesurer la consommation d'oxygène des organismes. En effet, la réoxydation des molécules de NADH et FADH₂ utilisés au cours de la glycolyse et du cycle de Krebs, nécessite 6 moles d'oxygène par mole de glucose. Le bilan de cette réaction est donc : $\text{Glucose} + 6 \text{ O}_2 + 38 \text{ ADP} + 38 \text{ Pi} \rightarrow 6 \text{ CO}_2 + 38 \text{ H}_2\text{O} + 38 \text{ ATP} + 1694 \text{ kJ}$. Sur cette base il est possible de mesurer de façon indirecte le taux métabolique aérobie, c'est-à-dire la production d'ATP d'un organisme en calculant sa consommation d'oxygène. Le cycle de Krebs produit 6 moles de CO₂ par mole de glucose. Par conséquent, le taux métabolique aérobie peut être mesuré en évaluant la quantité de dioxyde de carbone (CO₂) rejeté par l'organisme. Toutefois, le CO₂ produit n'intervient pas uniquement dans les réactions métaboliques. Une fraction de ce CO₂ est utilisée par

l'organisme dans divers systèmes tampon, tels que la régulation du pH sanguin, par exemple. Par conséquent, la mesure du CO₂ rejeté par l'organisme n'est fiable que lorsque le pH sanguin est à l'équilibre.

3.2. Concept de Fry (1971)

Les variables environnementales exercent une influence déterminante sur la plupart des activités des organismes aquatiques. Cependant, ces variables étant multiples et leurs effets complexes, il n'existe pas actuellement de compréhension globale des effets environnementaux sur les performances de ces organismes. En 1971, Fry a proposé un cadre conceptuel afin de mieux cerner l'impact des facteurs abiotiques sur l'activité de l'organisme.

3.2.1. Taux métabolique et registre métabolique

Le taux métabolique correspond à la quantité d'énergie utilisée par l'organisme afin de pourvoir à la réalisation de ses activités. Elle peut être estimée par sa consommation d'oxygène. Fry (1971) a défini trois taux métaboliques : le taux métabolique de base, le taux métabolique de routine et le taux métabolique actif.

Le *taux métabolique de base* (abrégié SMR en anglais, Standard Metabolic Rate) correspond à la consommation d'oxygène minimale nécessaire au maintien des fonctions vitales (par ex. approvisionnement d'énergie au muscle cardiaque, au cerveau, ventilation). Il est mesuré au repos, à jeun, en dehors de la période de reproduction et à l'équilibre thermique.

Le *taux métabolique de routine* (RMR, Routine Metabolic Rate, en anglais) correspond au taux moyen observé chez un poisson libre de ses mouvements. Il dépend du niveau d'activité spontané du poisson. Il comprend d'une part, le métabolisme alloué aux activités de base (SMR) auxquels s'ajoute le coût des activités discrétionnaires (digestion, nage, croissance).

Le *taux métabolique actif* (abrégié AMR en anglais, Active Metabolic Rate) est le taux métabolique maximal. Il est mesuré lorsque l'organisme fournit un effort métabolique intense (nage soutenue, digestion d'un très gros repas, etc.).

La différence entre le taux métabolique de base et le taux métabolique actif correspond au *registre métabolique*. Il représente la quantité d'énergie qui peut être mobilisée à un moment donné dans des conditions environnementales données. C'est donc le cadre énergétique instantané à l'intérieur duquel un organisme doit assurer l'ensemble de ses besoins métaboliques.

Le registre métabolique est spécifique de l'espèce et évolue au cours du cycle de vie. Il est également influencé par les conditions environnementales, notamment la température et le niveau d'oxygénation de l'eau (Priede, 1985).

3.2.2. Classification des facteurs abiotiques selon Fry (1971)

Les facteurs environnementaux (abiotiques) qui influencent le métabolisme ont été classés par Fry (1971) en 5 catégories : *létaux, contrôlant, limitant, masquant et directs* selon leur influence sur le registre métabolique.

Les *facteurs létaux* sont ceux qui entraînent la mort de l'organisme par l'arrêt des processus métaboliques. Ces facteurs sont caractérisés par deux composantes : (a) le seuil léthal qui correspond à la valeur limite entraînant la mort de l'animal et (b) le temps requis pour entraîner l'effet léthal. Dans cette catégorie entrent par exemple, la température, les contaminants, la concentration en oxygène ou en CO₂.

Les *facteurs contrôlants* influencent le taux métabolique via l'état d'activation moléculaire des composants de la chaîne métabolique. Ces facteurs contrôlent à la fois le taux métabolique basal et le taux métabolique maximal. La température est un facteur contrôlant typique par son action sur la vitesse des réactions enzymatiques du métabolisme.

Les *facteurs limitants* opèrent en réduisant ou en supprimant l'approvisionnement des composants de la chaîne métabolique. L'oxygène est un exemple de facteur limitant car, en dessous d'une certaine concentration, il restreint le fonctionnement des voies métaboliques.

Les *effets masquants* modifient l'effet des autres facteurs sur le taux métabolique. Les effets masquant entraînent un coût énergétique supplémentaire. Ainsi, ces facteurs accroissent de manière exagérée la demande énergétique de base de l'organisme. C'est le cas, par exemple, de la salinité qui impose un surcoût métabolique via l'osmorégulation.

Les *facteurs directifs* permettent d'orienter les réponses physiologiques, comportementales ou chimiques de l'organisme. Cette régulation permet de minimiser les dépenses énergétiques de l'animal en le maintenant dans une gamme de valeurs de confort éloignées des valeurs extrêmes. Les facteurs directifs guident l'animal dans son environnement aussi bien face à des contraintes physiques (température, pression, oxygène, par exemple) que dans ses relations avec d'autres organismes (relation prédateur-proie, par

ex.). Pour cela, la régulation intervient, soit grâce aux organes des sens (ouïe, vue, capteurs sensitifs : température, pression, oxygène), soit sans la médiation des sens (effets de la photopériode sur la glande pituitaire, par ex.).

3.2.3. Signification écologique du registre métabolique

Le registre métabolique définit le cadre bioénergétique à l'intérieur duquel l'animal doit satisfaire l'ensemble de ses fonctions biologiques. Les conditions environnementales peuvent restreindre le registre métabolique et ainsi être à l'origine de conflits dans la budgétisation de l'énergie entre les différentes fonctions. Dans ce cas, des priorités sont établies, généralement en faveur des processus vitaux et au détriment de processus à long terme telle que croissance ou reproduction. En d'autres termes, le registre métabolique conditionne la stratégie d'allocation d'énergie du poisson et détermine la performance physiologique de l'individu.

Il détermine également ce que l'on pourrait appeler la « performance écologique » des individus, c'est-à-dire leur degré d'adaptation à leur écosystème, dont dépend leur fitness (capacité des individus à transmettre leurs gènes à la génération suivante). La croissance est une des composantes majeures de la fitness, elle est donc couramment utilisée comme un estimateur de la fitness. Or, plusieurs études ont montré que des conditions environnementales non optimales telles que l'hypoxie (Chabot et Dutil, 1999) engendrait une réduction du taux de croissance et donc de la fitness. Ces études ont également montré que la réduction du taux de croissance était liée à la réduction du taux d'ingestion. Or, il existe chez la morue, une relation linéaire entre le taux d'ingestion et le registre métabolique (Claireaux *et al.*, 2000). La réduction du taux d'ingestion pourrait donc être interprétée comme un ajustement comportemental de l'animal à la réduction de l'énergie disponible pour la digestion.

Il a également été démontré que des ajustements comportementaux pouvaient intervenir afin de minimiser l'impact des conditions environnementales sur le registre métabolique du poisson.

4. Régulations physiologiques et comportementales liées à l'oxygène

Parmi les facteurs qui influencent le métabolisme des poissons, l'oxygénation de l'eau est particulièrement déterminante. Si l'on se réfère à la classification de Fry (1971), ce facteur peut tout à la fois être contrôlant, limitant, directif ou létal selon sa concentration. Tout au long de ce manuscrit, le terme « normoxie » a été utilisé comme étant la concentration en oxygène dissous à saturation avec l'air. Le terme « hypoxie » a été utilisé afin de définir une condition expérimentale ou environnementale pour laquelle la concentration en oxygène dissous n'est pas optimale (inférieure à la saturation à l'air) et le terme d'« anoxie » lorsqu'un milieu est totalement dépourvu d'oxygène. Dans la littérature, le terme hypoxie a été utilisé originellement pour désigner des conditions où la concentration en oxygène est comprise entre 2,8 mg l⁻¹ et 0,0 mg l⁻¹, c'est-à-dire entre ~ 40-30 et 0 % de saturation à l'air selon la température et la salinité de l'eau (Diaz et Rosenberg, 1995). Selon ces auteurs les limitations physiologiques de l'oxygénation de l'eau n'apparaissent qu'en dessous du seuil de 2.8 mg l⁻¹. Or, plusieurs exemples récents tirés de la littérature montrent que même à des niveaux de saturation de l'ordre de 70-80 % l'oxygénation de l'eau peut exercer un effet limitant sur certaines activités clés des poissons. C'est pourquoi dans ce manuscrit, le terme hypoxie est utilisé pour désigner des teneurs en oxygène comprises entre l'anoxie et 75-80 % de saturation.

Chez les poissons il existe des chémorécepteurs périphériques, à la fois internes et externes, situés sur les branchies, dans la bouche, la région pharyngienne et le long du réseau vasculaire. Ces récepteurs renseignent l'organisme sur la concentration en oxygène dissous dans l'eau et dans le sang. Ces récepteurs permettent à l'animal de réagir à la baisse progressive de la concentration en oxygène dissous. Dans un premier temps, des mécanismes physiologiques et comportementaux se mettent en place pour permettre à l'animal de compenser la baisse de la disponibilité en oxygène dans le milieu (cf. §4.1). Toutefois, au delà d'un seuil critique (O_{2crit}), les mécanismes de régulation deviennent inefficaces. Le métabolisme aérobie est relayé par le métabolisme anaérobie, moins performant, qui à long terme, ne permet pas à l'animal de subvenir à ses besoins en énergie. C'est pourquoi l'hypoxie peut affecter l'efficacité des processus de reproduction ou de croissance, l'organisation des relations trophiques et finalement la survie de l'organisme (cf. §4.2)

4.1. Mécanismes de régulation face à l'hypoxie

Face à une baisse de la disponibilité en oxygène dans le milieu, on observe plusieurs types de réponse. Les organismes opèrent tout d'abord des ajustements comportementaux, d'évitement ou de fuite. Toutefois, lorsque ces ajustements sont impossibles ou inefficaces, des mécanismes supplémentaires de défense sont mis en place avec des adaptations d'ordre physiologique qui visent à compenser la baisse des flux d'oxygène internes.

4.1.1. Mécanismes comportementaux

Face à la chute de l'oxygénation de l'eau, les stratégies adaptatives visent à éviter les zones pauvres en oxygène ou à réduire les besoins métaboliques. Les valeurs seuils au-delà desquelles ces ajustements se mettent en place varient d'une espèce à l'autre. Chez la sole, on observe une réduction de l'activité de nage spontanée à partir de 20 % de saturation (Van den

Thillart *et al.*, 1994; Dalla Via *et al.*, 1998). Chez la petite roussette *Scyliorhinus canicula*, la baisse de l'activité est observée à partir de 40 % sat. (Metcalfé et Butler, 1984). Afin de ralentir leur métabolisme les ectothermes régulent leur température corporelle. Cette régulation comportementale du taux métabolique s'appuie sur l'hétérogénéité des conditions thermiques dans les milieux aquatiques (*e.g.* stratification) et sur la relation directe positive entre température et vitesse des réactions biochimiques. Il a ainsi été démontré chez la morue que le *preferendum* thermique était de 13,9°C en normoxie et de 8,8°C à 15 % de saturation à l'air (Schurmann et Steffensen, 1992). Avec la baisse de la disponibilité en oxygène on observe également une baisse de la prise alimentaire avec une réduction de la fréquence et/ou de la taille des repas (Chabot et Dutil, 1999). En effet, les coûts de recherche de nourriture, de digestion et d'assimilation représentent une part importante du budget énergétique (Brett et Groves, 1979). Chez le turbot, par exemple, il a été calculé que la digestion mobilisait jusqu'à 52 % du registre métabolique à 16°C (Mallekh et Lagardère, 2002).

4.1.2. Réponses physiologiques à court terme

Lorsque les ajustements comportementaux sont insuffisants ou inopérants, des adaptations physiologiques permettent aux poissons de faire face à une diminution de la ressource en oxygène. En réponse à l'hypoxie, des ajustements de l'activité ventilatoire et circulatoire sont observés. Les chémorécepteurs périphériques, sensibles à la chute de l'oxygénation de l'eau, induisent un réflexe hyperventilatoire médié par la libération de catécholamines (adrénaline et noradrénaline; (Fritsche et Nilsson, 1993). Le réflexe hyperventilatoire conduit à un accroissement du flux d'eau traversant la cavité branchiale et donc de l'extraction de l'oxygène (Jensen *et al.*, 1993). L'augmentation du flux ventilatoire est liée à la fois à l'augmentation de la fréquence et de l'amplitude ventilatoire. D'autre part, la surface branchiale est déterminante en ce qui concerne la quantité d'O₂ qui diffuse à travers l'épithélium. C'est pourquoi, une vasodilatation a été mise en évidence au niveau de la branchie. Chez la truite arc-en-ciel *Onchorynchus mykiss*, Booth (1979) a observé que qu'une

baisse de l'oxygénation ambiante s'accompagne d'une augmentation de la perfusion des lamelles branchiales. Ce recrutement de lamelles non perfusées en condition normoxique est sous contrôle adrénérgique et implique une vasodilatation branchiale compensée par une vasoconstriction systémique. La vasodilatation branchiale s'accompagne en outre d'une réduction de la distance de diffusion des gaz de l'ordre de 36 % à 25-30 % sat. (Soivio et Tuurala, 1981; Perry et Laurent, 1993). La vasoconstriction systémique implique notamment la circulation splanchnique ou cutanées (Axelsson *et al.*, 2002). En condition hypoxique une diminution de la fréquence des battements cardiaques (bradycardie) est fréquemment observée. Cette baisse du rythme cardiaque est cependant compensée par une augmentation du volume d'éjection systolique d'où un relatif maintien du débit cardiaque (Holeton et Randall, 1967; Randall, 1982).

En complément de ces régulations cardiorespiratoires les poissons disposent d'un mécanisme de régulation de l'affinité du sang pour l'oxygène. Chez les poissons les hémoglobines sont contenues dans des érythrocytes. Ces molécules sont constituées de 4 monomères composés chacun d'un hème (porphyrine contenant un atome de fer) et d'une protéine globulaire. L'ion fer est le site de fixation du dioxygène. Il existe de nombreux types d'hémoglobine présentant des caractéristiques fonctionnelles diverses en terme d'affinité pour l'oxygène en fonction des conditions de température, de salinité et surtout de pH. En effet, lorsque le pH diminue, par exemple en raison de l'accumulation de CO₂ dans le sang, l'affinité de certaines Hb pour l'O₂ diminue (effet Bohr) (Schmidt-Nielsen, 1998). Toutefois, afin de préserver l'Hb sensible au pH des conséquences de l'effet Bohr, l'adrénaline induit le déclenchement d'échangeur Na⁺/H⁺. Comme son nom l'indique, il permet l'éjection d'ions H⁺ intracellulaires en échange d'ions Na⁺ extracellulaires, et l'augmentation du pH intra-érythrocytaire (alcalinisation). De plus, la capacité de transport de l'O₂ par le sang peut être améliorée soit en augmentant la concentration d'érythrocytes dans le sang, soit en augmentant la concentration d'hémoglobine dans les érythrocytes. La libération de catécholamines dans l'organisme provoque ces deux effets. Elle déclenche une réponse hématopoïétique qui vise à augmenter le taux d'hématocrite (pourcentage relatif du volume occupé par les hématies par

rapport au volume sanguin) puis la concentration d'hémoglobine (Pichavant *et al.*, 2002; Lai *et al.*, 2006). Cependant, cette réponse entraîne un coût énergétique supplémentaire pour l'organisme. En effet, la production d'érythrocytes (ou polyglobulie) augmente la viscosité du sang qui génère une résistance supérieure du flux sanguin et augmente ainsi le travail du cœur.

4.1.3. Réponses physiologiques à long terme

Lorsque la durée de l'hypoxie est plus longue, des mécanismes d'adaptations à plus long terme se mettent en place. Des modifications anatomiques de la structure branchiale ont par exemple été observées. En normoxie, le Carassin commun (*Carassius carassius*) ne possède pas de lamelles secondaires, il a donc une faible surface branchiale. Toutefois, l'absence de lamelles secondaires en normoxie n'est qu'apparente. En effet, ces structures sont enfouies sous une masse de cellules qui comblent l'espace interlamellaire. Lors d'une exposition de 14 jours à 6-8 % de saturation, les cellules interlamellaires sont lysées progressivement laissant apparaître les lamelles secondaires. La surface d'échange entre l'eau et le sang est ainsi augmentée de 750 % (Sollid *et al.*, 2003). De plus, ce phénomène est réversible en quelques jours en normoxie. Ce mécanisme adaptatif offre donc un compromis intéressant en termes énergétiques. Il facilite les échanges d'oxygène en hypoxie tout en permettant de réduire les problèmes liés à l'osmorégulation en normoxie, ainsi que les coûts énergétiques dus à la résistance du flux ventilatoire. L'osmorégulation est la fonction par laquelle un organisme régule les caractéristiques ioniques et hydriques de son milieu intérieur. Le Carassin commun, comme toutes les espèces d'eau douce, est hypertonique par rapport à son milieu. Il doit maintenir sa concentration interne en sels plus élevée que la concentration du milieu. Il doit donc lutter contre une entrée importante d'eau qui diffuse à travers l'épithélium branchial en suivant le gradient ionique. Il doit donc éliminer cette eau qui s'accumule par osmose et compenser la perte d'électrolytes par l'apport actif d'ions à travers

l'épithélium branchial. Cette régulation entraîne un coût énergétique dont dépend la surface d'échange branchiale. Plus cette surface est importante, plus les échanges passifs en eau sont importants et plus l'énergie investie pour évacuer l'eau en surplus et compenser les pertes d'ions est élevée.

L'érythropoïétine (EPO) est le facteur de croissance des précurseurs des érythrocytes dans la moelle osseuse. Sa production au niveau du rein augmente en hypoxie. Cette augmentation permet d'augmenter la concentration d'hémoglobine dans le sang en supplantant dans le temps la libération d'« urgence » d'érythrocytes par la rate. En ce sens, le système érythropoïétique des poissons présente une réponse similaire à celle des mammifères en hypoxie (Lai *et al.*, 2006). Une baisse de la teneur en ATP-GTP dans les globules rouges a également été rapportée. Elle entraîne une modification des propriétés fonctionnelles des molécules d'hémoglobines (affinité et coopérativité) (Soivio *et al.*, 1980; Tetens et Lykkeboe, 1981; Boutilier *et al.*, 1988; Val *et al.*, 1995). Il s'agit d'un mécanisme compensatoire favorisant l'affinité de Hb pour l'O₂, grâce à un effet allostérique direct sur la molécule d'hémoglobine et un effet indirect par l'augmentation du pH intraérythrocytaire. Les nucléosides triphosphates (NTP) se lient aux globulines, déplaçant l'équilibre entre les 2 formes de l'Hb : de la forme R de haute affinité vers la forme T de basse affinité pour l'O₂.

4.1.4. Réponses évolutives

Les populations de poissons soumises de façon régulière à l'hypoxie développent des adaptations à long terme qui peuvent être assimilées par le génome. Chapman *et al.* (2000) ont analysé la réponse physiologique de deux populations d'une espèce de cyprinidé africain (*Barbus neumayeri*) face à la variation de la concentration en oxygène dissous. L'une des deux populations provenait d'un site où la concentration en oxygène était élevée (6,21 mg l⁻¹) et l'autre d'un site soumis à une hypoxie chronique (1,67 mg l⁻¹). La population du site dit

« hypoxique » présentait un hémocrite plus élevé que la population du site dit « normoxique », mais cette différence physiologique a disparu après plusieurs mois en laboratoire en conditions normoxiques. *A contrario*, l'activité de la lactate déshydrogénase (LDH) était plus élevée dans le foie de la population du site hypoxique et cette différence a persisté en laboratoire. La LDH catalyse la réaction de transformation du pyruvate + NADH en lactate + NAD⁺, et intervient donc dans la voie anaérobie de production d'ATP. Dans cet exemple, l'augmentation du taux d'hémocrite en hypoxie correspond à une variation phénotypique de l'adaptation à l'hypoxie. Cependant, on observe un polymorphisme génétique concernant le gène codant pour la LDH. Cette observation témoigne d'une adaptation génétique (évolutive) pour ce caractère.

En dernier lieu, des adaptations anatomiques ont été sélectionnées au cours de l'évolution afin de permettre à certaines espèces de poissons de respirer de l'oxygène atmosphérique. En plus de leur appareil branchial, les dipneustes (sarcoptérygiens : le *Lepidosiren* en Amérique du sud, le *Protopterus* en Afrique et le *Neoceratodus* en Australie) ont développé un poumon alvéolé à partir d'une structure primitive qui a probablement évolué en vessie natatoire chez les actinoptérygiens. *Arapaima* en zone tropicale, et *Amia* et *Lepisosteus* en Amérique du Nord utilisent leur vessie natatoire comme organe d'échange d'O₂ atmosphérique (Graham, 1997; Schmidt-Nielsen, 1998). Chez les espèces du genre *Hoplosternum*, on observe le passage progressif d'une respiration strictement branchiale lors de l'éclosion à une respiration aérienne assurée par l'intestin chez l'adulte (Persaud *et al.*). On pense que la respiration dite 'de surface' (ASR, Aquatic Surface Respiration) est à l'origine de cette évolution. Cet ajustement comportemental consiste à monter vers la surface et à ventiler la couche d'eau en contact avec l'air, potentiellement mieux oxygénée (Holeton, 1980; Kramer, 1987; Shingles *et al.*, 2005; Sloman *et al.*, 2006). Ce comportement semble être une adaptation développée par des espèces régulièrement exposées à l'hypoxie comme c'est le cas dans les rivières, les mangroves, les estuaires et les eaux côtières sous climat tropical (Panama) (Kramer, 1983a).

4.2. Conséquences écologiques

Les remaniements morphologiques et fonctionnels observés lors d'un épisode hypoxique ont des répercussions sur la relation entre l'animal et son milieu et ils sont donc de nature à influencer la dynamique des populations (survie, recrutement, production de biomasse...). Parmi les composantes de la relation animal-milieu qui sont modifiées citons la distribution, la relation prédateurs-proie ou l'investissement reproducteur.

4.2.1. Distribution

Les poissons évitent lorsqu'ils le peuvent, les zones hypoxiques. Toutefois, ce comportement d'évitement des zones hypoxiques est fonction du type écomorphologique de l'espèce. Les espèces pélagiques, plus mobiles, se déplacent plus facilement sur de plus grandes distances que les espèces benthiques. La teneur en oxygène de l'eau peut également influencer la répartition verticale des poissons au sein de la colonne d'eau. Par exemple, il a été démontré expérimentalement que les bars évitent les zones profondes d'un bassin dont la concentration en oxygène est inférieure à 40 % de saturation (Schurmann *et al.*, 1998). L'hypothèse des auteurs est qu'en dessous de 40 % de saturation, le registre métabolique de l'animal ne lui permet pas de réaliser ses activités de routine avec une marge de manœuvre suffisante. En effet, chez cette espèce, le registre métabolique à 40 % de saturation représente 45 % de sa valeur en normoxie (Claireaux et Lagardère, 1999). L'impact de l'hypoxie sur le registre métabolique serait donc déterminant dans leur répartition géographique. La distribution des organismes peut également être affectée par des adaptations comportementales à la réduction de l'oxygénation. Ces adaptations consistent à rechercher des environnements dont la teneur en oxygène dissous est supérieure. C'est pourquoi, certaines espèces pélagiques remontent dans la colonne d'eau jusqu'à la surface, afin de respirer la fine couche d'eau en contact avec l'air (ASR ; (Kramer, 1983a). Les espèces benthiques, elles, sont capables de migrations verticales sans quitter le fond auquel elles sont inféodées. Dans ce cas, elles remontent le long du plateau continental vers des zones moins

profondes afin de bénéficier d'eaux plus oxygénées (Pihl *et al.*, 1991). A l'échelle d'écosystèmes comme celui du Saint-Laurent (Canada), il a été démontré que la morue, un poisson de fond, évitait les zones les plus profondes du chenal Laurentien (~ 500 m), où la concentration en oxygène est inférieure à 3.4 mg.l⁻¹ (D'Amours, 1993). En effet, en dessous de cette valeur, le registre métabolique de la morue est réduit de 60 % (Claireaux *et al.*, 2000). Elles se concentrent sur les plateaux infralittoraux où la profondeur est supérieure à 200 m et la teneur en oxygène supérieure à 60 % de saturation.

4.2.2. Reproduction

Peu d'études ont examiné l'influence de la concentration en oxygène dissous sur la reproduction des vertébrés aquatiques. En effet, il est difficile d'analyser in situ les conséquences de l'hypoxie directement sur la reproduction en termes comportementaux (accouplement) ou physiologiques (fécondation). Afin d'évaluer cet effet, il est cependant possible de déterminer l'impact de l'hypoxie sur les caractères morphologiques et endocriniens, témoins du fonctionnement de l'appareil reproducteur. Chez le Tambour brésilien (*Micropogonias undulatus*), l'index gonadosomatique de femelles élevées durant 10 semaines à 24 % de saturation, a été divisé par ~ 4 par rapport au groupe contrôle élevé en normoxie. De plus, on observe une diminution de la production d'ovocytes matures, seuls capables de produire des larves viables (Thomas *et al.*, 2006). Chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) élevé en hypoxie (120 jours post fertilisation à 0,8 mgO₂ l⁻¹, soit 13 % sat.), le sexe ratio est déséquilibré en faveur des mâles, 74 % en hypoxie contre 62 % en normoxie. L'augmentation du nombre de mâles dans le groupe hypoxique a été associée à une diminution de l'expression de gènes contrôlant la synthèse d'hormones sexuelles ainsi qu'à une augmentation du ratio testostérone/oestradiol (Shang *et al.*, 2006).

4.2.3. Croissance

De nombreuses études ont été menées sur les conséquences d'une baisse de la disponibilité en oxygène sur la croissance des poissons (Brett, 1979). En effet, la croissance est un intégrateur des performances physiologiques du poisson et donc un bon indicateur de l'impact des conditions environnementales sur ces performances. De manière générale, l'hypoxie induit une perte de croissance durant l'exposition qui est fonction du niveau d'hypoxie et de l'espèce considérée. Chez la morue, la croissance en masse décroît à partir de 73 % (6,9 mg l⁻¹) de saturation et la croissance en longueur à partir de 65 % (6,1 mg l⁻¹) (Chabot et Dutil, 1999). Chez le turbot, la croissance en masse est réduite de façon significative à partir de 5,0 mg l⁻¹ (65 % sat.) par rapport à la normoxie (Pichavant *et al.*, 2000). La perte de croissance s'explique par une réduction de la prise alimentaire. En effet, la prise de nourriture a une conséquence directe sur la croissance (Jones et Hislop, 1978) et la ration journalière diminue avec l'hypoxie (Stewart *et al.*, 1967; Pedersen, 1987; Chabot et Dutil, 1999; Foss *et al.*, 2002; Person-Le Ruyet *et al.*, 2003). L'appétit, c'est-à-dire la prise de nourriture est sous contrôle hormonal. L'hypothalamus sécrète des neuropeptides afin de stimuler (facteurs orexigéniques) ou inhiber (facteurs anorexigéniques) la prise de nourriture. Ce système est également sous contrôle endocrine périphérique. Le tube digestif sécrète par exemple de la cholécystokinine (CCK) et de l'amyline pancréatique qui entraînent la diminution de l'appétit (Volkoff, 2006). Le système de contrôle et de rétrocontrôle de l'appétit est très complexe et fait intervenir de nombreuses molécules. L'impact de l'hypoxie sur ce système n'a pas été exploré à notre connaissance. D'autre part, les auteurs sont partagés concernant l'effet la concentration en oxygène sur le taux de conversion de nourriture (FCE = gain de masse (g) ÷ quantité de nourriture ingérée (g)). Pour certains, il ne semble pas varier avec la concentration en oxygène de l'eau (Thetmeyer, 1999). Pour d'autres, il diminue avec la baisse de la disponibilité en oxygène, généralement à partir de 4 mg l⁻¹ (Stewart *et al.*, 1967; Brett, 1979; Brett et Blackburn, 1981; Pedersen, 1987; Bejda *et al.*, 1992; Chabot et Dutil, 1999; Foss *et al.*, 2002; Person-Le Ruyet *et al.*, 2003; Wilhelm Filho *et al.*, 2005).

Après un ralentissement de la croissance en hypoxie, on observe généralement une accélération de la croissance lorsque les poissons sont replacés en normoxie. Le taux de croissance en masse et en longueur est alors plus élevé que celui de poissons maintenus en normoxie (Bejda *et al.*, 1992; Foss et Imsland, 2002). La compensation de croissance peut être partielle ou complète (Ali *et al.*, 2003). D'après la revue de littérature réalisée par Sogard (1997), le risque de mortalité serait inférieur chez les individus les plus grands. En effet, les poissons les plus petits seraient moins résistants au jeûne, plus sensibles à la température et plus facilement capturés par des prédateurs. Le succès reproducteur serait également lié à la taille. La fécondité serait plus faible chez les femelles les plus petites et la possibilité de s'accoupler supérieure chez les mâles les plus gros en raison de la compétition entre les mâles (Parker, 1992). Or, la survie et la reproduction participe à la fitness de l'individu. Par conséquent, si un taux de croissance élevé améliore les performances individuelles en termes de fitness, la question est donc de savoir pourquoi les poissons ne grandissent pas aussi rapidement en condition contrôle. Pourquoi le taux de croissance des poissons conservés en normoxie n'est pas aussi élevé alors que physiologiquement, il leur est possible de grandir plus rapidement ? Cette observation suggère que le coût énergétique de la croissance compensatoire est élevé et qu'un compromis est nécessaire entre ce coût et le bénéfice qu'elle génère (Arendt, 1997).

4.2.4. Relation prédateur-proie

L'impact de la concentration en oxygène sur la relation prédateur proie est complexe car il concerne à la fois le prédateur et la proie. Une étude réalisée à différents niveaux d'hypoxie dans la baie de la Chesapeake montre que la pression de prédation exercée sur les larves de gobies (*Gobiosoma bosc*) par les adultes de la même espèce ou par les juvéniles de bar d'Amérique (*Morone saxatilis*) diminue en dessous d'un seuil d'oxygénation de 3 mg l⁻¹. Cependant, dans ces conditions d'hypoxie sévère c'est la méduse *Chrysaora quinquecirrha* qui devient le prédateur principal des larves de gobies (Breitburg *et al.*, 1994). Ces

observations suggèrent que la contrainte imposée par l'hypoxie affecte la capacité de prédation des 2 espèces de poissons au bénéfice de celle de la méduse. Ceci pourrait s'expliquer par le fait qu'en dessous de 3 mg l^{-1} , contrairement à la méduse, les poissons montrent une incapacité à s'enfuir (proie) ou à attaquer (prédateurs). Des observations identiques ont été faites sur d'autres espèces. Le taux de capture de larves de sere japonaise (*Pagrus major*) par une méduse (*Aurelia aurita*) augmente avec la diminution de la concentration en oxygène. *A contrario*, celui du thazard oriental (*Scomberomorus niphonius*) diminue en dessous de 4 mg l^{-1} à cause de la réduction de ses performances de nage et donc de son succès de capture (Shoji *et al.*, 2005a). Cependant, la pression de prédation sur les larves, peut varier en fonction de la taille de la larve en hypoxie (Shoji *et al.*, 2005b).

Parallèlement à l'altération des performances d'attaque du prédateur, la capacité de fuite de la proie diminue avec la concentration en oxygène de l'eau. Chez le bar, la réponse de fuite à un stimulus est altérée en dessous de 50 % de saturation (Lefrançois et Domenici, 2006). La vitesse maximale, la distance cumulée, l'accélération maximale et la capacité à maintenir une direction qui s'éloigne du stimulus sont inférieures en hypoxie $\leq 50 \%$ sat.

Dans le cas où la proie est plus sensible que le prédateur à la baisse de la disponibilité en oxygène, elle peut disparaître rapidement obligeant ainsi le prédateur à modifier son régime alimentaire. Powers *et al.* (2005) ont observé la disparition de 90 % de la population de bivalves *Malcoma baltica* dans l'estuaire de la Neuse (Caroline du Nord, USA) lors d'un événement hypoxique. Ce bivalve était une espèce-clé dans le régime alimentaire du Tambour brésilien (*Micropogonias undulatus*), l'espèce démersale la plus abondante dans ce milieu. La disparition de *Malcoma* a obligé le Tambour brésilien à se nourrir de plantes et de matériels détritiques de moindre valeur nutritive, ce qui à terme peut affecter la survie de la population. La modification des relations prédateur-proie sous l'influence de la baisse de l'oxygénation de l'eau peut entraîner une restructuration du réseau trophique et modifier le fonctionnement de l'écosystème.

4.2.5. Survie

En dernier lieu, lorsque l'oxygénation de l'eau est insuffisante pour assurer les besoins minima de l'animal, malgré les adaptations comportementales ou physiologiques qu'il développe, elle entraîne sa mort (Kramer, 1983b; Breitburg, 1992; Schurmann et Steffensen, 1992; Plante *et al.*, 1998; Wu, 2002; Rezaul Karim *et al.*, 2003). De plus, lorsque l'hypoxie est combinée avec un autre facteur biotique (maladie) ou abiotique (température, salinité) limitant, il peut apparaître un effet synergique des deux facteurs. Ceci implique que l'hypoxie deviendrait létale à un niveau de concentration en oxygène supérieur à la concentration létale en l'absence de ce facteur, rendant les espèces plus sensibles à une réduction de l'oxygénation de l'eau (Pörtner *et al.*, 2005).

- Chapitre I -

Conséquence de l'augmentation de la viscosité de
l'eau sur la ventilation et le métabolisme de la sole
commune (*Solea solea*, L.)



Ce premier chapitre est présenté sous la forme d'un article publié dans *Marine Biology*, **152**, 803-814. Le manuscrit est précédé d'une introduction en français et est suivi d'une synthèse qui résume les principaux résultats de l'étude.

Les côtes Atlantiques françaises présentent de larges surfaces de vasières intertidales. Ces milieux sont très productifs (Verger, 1968; Guarini *et al.*, 1998) et influencent de façon significative les flux de matières et d'énergie dans les réseaux trophiques côtiers (Leguerrier *et al.*, 2003). Les vasières sont d'une part, des sites essentiels de nourricerie pour de nombreuses espèces de téléostéens, notamment les pleuronectiformes (poissons plats) (Gibson, 1997) et d'autre part un milieu largement exploité pour la conchyliculture. Actuellement, 150 000 t d'huîtres et 60 000 t de moules sont en exploitation (Gouilletquer et Le Moine, 2002). D'importants volumes d'eau de mer sont filtrés par ces mollusques afin de se nourrir et respirer (Bougrier *et al.*, 1995; Petersen *et al.*, 2004). La conséquence la plus visible du processus de filtration est l'accumulation de fèces et de pseudofèces sous les installations conchylicoles. A titre d'exemple, la conchyliculture du bassin de Marennes-Oléron génère plus de 6 t (masse sèche) de biodépôts par hectare cultivé et par jour durant les périodes de filtration intense (Sornin *et al.*, 1986). Les biodépôts sont constitués de diverses substances polymériques extracellulaires incluant des exopolysaccharides (EPS). Les EPS sont des molécules à longues chaînes organisées en colloïdes et connues pour modifier les propriétés rhéologiques de l'eau et plus particulièrement sa viscosité (Jenkinson et Biddanda, 1995). Récemment, Jenkinson *et al.* (2007) ont démontré que les propriétés rhéologiques de l'eau influençaient la circulation de l'eau dans la cavité branchiale chez la sole (*Solea solea*). L'écoulement de l'eau dans la cavité branchiale nécessite une force minimale. Lorsque la viscosité de l'eau augmente, cette force minimale augmente également. Si le poisson est incapable de générer cette force, l'écoulement de l'eau est stoppé et le poisson est incapable de ventiler. Cette force minimale dépend de la concentration en EPS dans l'eau mais semble également dépendre de la géométrie de la cavité branchiale. Ces résultats laissent penser que la sensibilité des poissons aux EPS dépend de leur taille et de l'espèce. Toutefois, dans l'article de Jenkinson *et al.* (2007), l'altération possible des performances ventilatoires des

soles avec la viscosité de l'eau, n'a pas été mesurée sur des animaux vivants. Sur cette base, les objectifs de notre étude étaient donc de déterminer l'impact de la teneur en EPS de l'eau sur l'activité ventilatoire de juvéniles de poissons plats, dont la sole, selon leur taille et leur espèce.

Pour cela, l'influence de la teneur en EPS sur le *seuil d'écoulement* (Y en Pa) a tout d'abord été mesurée. Le seuil d'écoulement représente la pression minimale que doit générer le poisson afin de faire circuler l'eau sur ses branchies. A partir des mesures de seuil d'écoulement, la concentration en EPS critique ($[EPS]_{crit}$) a été déterminée. $[EPS]_{crit}$ est la concentration au dessus de laquelle la viscosité empêche l'écoulement de l'eau. J'ai ensuite comparé $[EPS]_{crit}$ selon la taille et l'espèce considérée, en fonction de son registre métabolique. En effet, j'ai supposé que les besoins énergétiques de chaque espèce (taux métabolique aérobie maximal) étaient corrélés à la surface branchiale de cette espèce (capacité de prélèvement de l'oxygène) (Gray, 1954; Hughes, 1972). J'ai confirmé cette hypothèse en disséquant l'appareil branchial chez le turbot et la sole. J'ai ensuite présumé que la résistance imposée au passage de l'eau à travers les branchies était fonction de la taille des branchies. Par conséquent, une espèce telle que le turbot, dont les besoins énergétiques sont plus élevés que ceux de la sole (Mallekh et Lagardère, 2002; Lefrançois et Claireaux, 2003), serait plus sensible à la teneur en EPS de l'eau.

Par la suite, j'ai examiné l'influence de la concentration en EPS sur l'activité ventilatoire de la sole. J'ai mesuré la fréquence et l'amplitude des changements de pression dans la cavité operculaire au cours du cycle ventilatoire. Afin d'établir de possibles conséquences de la teneur en EPS de l'eau sur le coût énergétique de la ventilation, j'ai ensuite mesuré le métabolisme basal (SMR) des juvéniles de soles. J'ai également tenté de déterminer les conséquences de la concentration d'EPS sur la tolérance à l'hypoxie en mesurant la consommation d'oxygène de routine (RMR) des soles lors d'une hypoxie progressive.

Afin de compléter mon étude, j'ai examiné *in situ* les niveaux de concentration d'EPS sur la vasière, notamment dans les parcs ostréicoles, afin de déterminer l'intérêt écologique de l'effet limitant des EPS sur la performance ventilatoire des soles.

Effects of water viscosity upon ventilation and metabolism of a flatfish, the common sole *Solea solea* (L.)

Christine S. Couturier^{1*}, Alice Rouault¹, David J. McKenzie², Robert Galois¹,
Serge Robert¹, Lucette Joassard¹ and Guy Claireaux²

1: Centre de Recherche sur les Ecosystèmes Littoraux Anthropisés, Place du Séminaire, L'Houmeau, 17137 France.

2: Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier, Station Méditerranéenne de l'Environnement Littoral, 1 Quai de la Daurade, Sète, 34200 France.

* Corresponding author: christinecouturier@hotmail.com

tel. +33 5 46 50 06 48, fax +33 5 46 50 06 00

Short title: Influence of water viscosity on juvenile sole

Keywords: *Solea solea*; Biodeposition; Water viscosity; Metabolism; Hypoxia; EPS

Summary

The French Atlantic coast contains large highly productive intertidal mudflats that are colonised by juveniles of numerous flatfish species, including the common sole (*Solea solea*, L.). These ecosystems are also heavily exploited by the shellfish farming industry. Intensive bivalve culture is associated with substantial biodeposition (1 to 6 t-dw ha⁻¹d⁻¹) which directly or indirectly contributes to increase exopolysaccharide (EPS) concentrations at the interface between water column and seabed. EPS are long-chain molecules organised into colloids which influence rheological properties of water, particularly viscosity. Increased water viscosity had consequences for ventilatory activity of juvenile flatfish, whereby the minimal pressure required to ventilate the medium increases directly with EPS concentration. Moreover, the critical EPS concentration ([EPS]_{crit}) at which water was no longer able to flow through the branchial basket ranged from almost nil to over 30 mg l⁻¹, depending on species and size. [EPS]_{crit} was lower in small individuals and individuals from species with high metabolic rates (turbot, plaice). These differences may depend upon gill and bucco-branchial cavity morphometrics. The ventilatory workload of sole increased with viscosity to a maximum at 2 mgEPS l⁻¹. Viscosity might, therefore, be a limiting factor for flatfish post larvae which colonise the intertidal mudflats, depending upon their size and species. EPS concentrations in the field can reach 15 mg l⁻¹. A selective effect is conceivable but remains to be estimated in the field.

1. Introduction

The French Atlantic coast comprises a series of intertidal mudflats the size of which ranges from about ten square kilometres (Aiguillon Cove) up to about one hundred square kilometres (Marennes-Oléron or Arcachon Bays) (Verger, 1968; Guarini *et al.*, 1998). Specific physical and chemical conditions (sediment fineness, depth, light, salinity, temperature, emersion, mixing and river run-off) lead to high microphytobenthic productivity (Guarini *et al.*, 1998). On that basis, it is believed that mudflats significantly influence the flux of matter and energy across coastal food webs (Leguerrier *et al.*, 2003). Moreover, intertidal mudflats are crucial nursery habitats for numerous fish species, particularly for flatfishes (Gibson, 1997).

Besides, along the Western coast of France, a total biomass of 150 000 t of oysters and 60 000 t of mussels is currently being cultivated (Gouletquer et Le Moine, 2002). Large volumes of sea water are filtered by bivalves for feeding and respiration (Bougrier *et al.*, 1995; Petersen *et al.*, 2004). The most visible consequence of water filtration by cultured bivalves is the accumulation of faeces and pseudofaeces on seabed around farming facilities. For instance, shellfish culture in Marennes-Oléron bay was calculated to generate up to 600 t (dry weight) of biodeposit per square km per day during periods of intense filtration (Sornin *et al.*, 1986). Biodeposition promotes the development of microphytobenthos, primarily diatoms and bacteria (Barillé et Cognie, 2000). These cells enhance the phenomenon of organic matter accumulation. They exude a mucilage layer to stabilise their micro-environment against physical and chemical disturbances (Decho, 1990). This layer is chemically complex but comprises microbial extracellular polymeric substances including exopolysaccharides (EPS). EPS are long-chain molecules organised into colloids which are

known to influence water rheological properties, specifically viscosity (Jenkinson et Biddanda, 1995).

Small fish are faced with viscosity-related friction forces until their size allows inertial forces to prevail over viscous ones (Osse et Van den Boogaart, 1999). The influence of viscous forces on the ability of young fish to move through water is well documented (Webb, 1988; Fuiman et Batty, 1997; Massel, 1999). On the other hand, the influence of viscous forces on the ability of fish to ventilate water through their gill basket is poorly described. To move water over the gills, teleost fish use a combined pumping action of the mouth and the opercular covers, aided by suitable valves to control the flow. The system consists of a double set of pumps. The volume of the first, the oral cavity, can be enlarged by lowering the jaw and especially the floor of the mouth. The volume of the second, the opercular cavity, can be increased by movements of the opercular covers while backflow of water around the edges is prevented by a skin flap acting as a passive valve. The action of the two pumps is such that a flow of water through the gills is maintained throughout nearly the entire respiratory cycle. This flow continues although the pressure in the mouth during part of the cycle may be less than that in the surrounding water; the reason is simply that the pressure is maintained even lower than in the mouth. During almost the entire respiratory cycle the pressure in the oral cavity remains higher than in the opercular cavities, providing for a virtually continuous flow of water over the gills (Hughes et Shelton, 1958; Hughes, 1960a; Schmidt-Nielsen, 1998).

Exopolysaccharides increase water viscosity (gelling) and so generate internal resistance to flow. Recently, Jenkinson et al. (2007) demonstrated the profound effect of the rheological properties of water on the flow through branchial basket of sole (*Solea solea*), using an in-situ preparation with dead animals. The resistance induced by EPS interfered significantly with water flow rate through the gill curtain of the sole and, at sufficient concentrations, this depressed the flow until it stopped completely. There was evidence that this effect was related to fish mass, but the response has not been yet tested in vivo to prove it.

Our primary objective was to investigate the relationship between water EPS content, fish ventilatory activity and metabolic demand. First, we investigated the influence of water EPS content on yield stress. The yield stress is the minimum head pressure ($\text{Pa} = \text{kg m}^{-1} \text{s}^{-2}$) that must be applied to a fluid to generate flow (Blair, 1933). Yield stress depends upon the resistance created by (1) the system in which water flows (dimensions and characteristics) and (2) the intrinsic characteristics of the fluid (viscosity). Thus, measuring yield stress allows assessment of the resistance to flow of a fluid in the respiratory cavity during ventilation (Jenkinson et Arzul, 1998). The yield stress is the minimum pressure threshold that fish must generate in order to make water flow across their gills. The influence of fish size and species upon yield stress was assessed comparing sole with solenette (*Buglossidium luteum*, R), plaice (*Pleuronectes platessa*, L.) and turbot (*Psetta maxima*, L.). These species exhibit a broad range of active metabolic rates (AMR). For instance, AMR of 100 g-turbot, plaice and sole have been measured as 305, 230, and 160 $\text{mgO}_2 \text{h}^{-1} \text{kg}^{-1}$ at 20°C, respectively (Fonds *et al.*, 1992; Mallekh et Lagardère, 2002; Lefrançois et Claireaux, 2003). We hypothesised that high AMR would reflect high gill area (Hughes, 1972) and we confirmed this by dissecting the gill apparatus and comparing the gill to body mass ratio of turbot versus sole. We hypothesised that relatively larger gills would generate a relatively higher resistance to gill water flow and, hence, that species such as the turbot would be more susceptible to the effects of water EPS load on gill water flow than were sole.

In a second set of experiments we examined the influence of water EPS content on ventilatory activity of sole, measuring frequency and amplitude of pressure changes in the opercular cavity during the ventilatory cycle. In order to quantify potential metabolic consequences of water viscosity on ventilatory work load, the standard metabolic rate of young sole was measured in water containing various levels of EPS. The consequence upon tolerance to hypoxia was also examined by submitting these animals to an episode of progressive hypoxia.

Additionally, we wanted to document EPS levels on mudflat habitats. We performed a seasonal and spatial field survey of EPS in the bottom water of the Pertuis Charentais, to gain insight into the ecological relevance of the limiting effects of EPS on flatfish ventilatory performance. This field survey was associated with a characterisation of the effects of EPS on the rheophysical properties of water.

2. Materials and methods

2.1. Experimental fish

Sole (1.1 to 22.3 g) and plaice (3.4 to 7.6 g) were caught in the Aiguillon Cove and along the south coast of Ile de Ré using shrimping nets. Solenette (1.4 to 17.1 g) were trawled from the Pertuis Charentais (Y. Desaunay, RV Gwen Drez). Turbot (3.5 to 30.3 g) were obtained from a local hatchery (France Turbot, Noirmoutier Island). Upon arrival in the laboratory, fish were transferred into 500 l indoor tanks supplied with recirculated and biofiltered natural sea water at a temperature of 17 °C. Fish were kept under natural photoperiod and temperature conditions for at least 3 weeks prior to any experimentation. Three times a week, wild fish (sole, solenette and plaice) were fed to satiation with pieces of fresh mussels or oysters, whereas turbot were provided with commercial dry pellets. One week before experimentation, fish were transferred to a thermoregulated room at 15 °C, with artificial lighting that matched the natural photoperiod.

2.2. Fluff sampling protocol

Mud was collected weekly at low tide in the immediate vicinity of an oyster rearing facility (Pampin beach, l’Houmeau France). Only the first centimetre of the sediment was collected, comprising the substrate that flatfish species would inhabit, composed of light viscous mud known as “fluff”. After homogenisation, samples were allowed to settle 2 hours in order to separate the heaviest particles (sand) from the fluff. The superficial water was then removed and the fluff was gently retrieved and kept at 4 °C to limit EPS degradation. According to Carlson (1987) no significant modification of viscosity occurs during the first 5 days following collection.

2.3. Biorheological effects of mud

2.3.1. Yield stress

2.3.1.1. Experimental set up and protocol

The experimental set up was built according to Jenkinson et al. (2007). Briefly, it consisted of a small aquarium divided into two compartments (A and B) connected by a tube. Continuity was established between that tubing and fish gill cavity via the mouth. An initial difference in water height between the compartments (typically 2.7 cm) allowed the fluid to flow by gravity from A to B via the gill chamber. The changes in hydrostatic pressure as water flowed through buccal and gill cavities were recorded continuously using a differential pressure transducer (Validyne Engineering Corp., Northridge, CA., USA), with the signal

amplified (Gould Carrier Amplifier, Ballainvilliers, France) and acquired on a PC with custom-designed software (G. Guillou, Crela-L'Houmeau).

Fish were killed by submersion into seawater containing a lethal dose of anaesthetic (2-phenoxyethanol, 2 ml l⁻¹). A standard pipette tip was fixed hermetically to the fish mouth and then inserted in the tube connecting the two compartments of the experimental device. At that time, water level in both compartments was allowed to equilibrate in order to verify the calibration of the pressure sensor ($\Delta P = 0$). The valve between compartments was closed and 70 ml of seawater added in A, generating a differential pressure corresponding to 290 Pa. The valve was then opened and the changes in pressure difference between A and B was recorded (40 Hz). To obtain various EPS concentrations, the original fluff was diluted with 0, 5, 10, 20, 30 and 50 % of fluff, by volume, in sea water. Solutions were tested sequentially. At the end of each experiment, EPS concentration was determined in the original fluff as well as in the 20 % diluted fluff. These measurements were used to calculate EPS concentrations in the other solutions using a linear regression. This experiment was conducted on sole (1.1 – 22.3 g), turbot (3.5 – 30.3 g), plaice (3.4 – 7.6 g) and solenette (1.4 – 17.1 g).

2.3.1.2. Modelling and analyses

Water flow through the gill cavity was modelled (NLREG™ Software, Ph. Sherrod) using the following equation:

$$H = (H_0 - y) e^{(-T/k)} + y \quad \text{Eq. 3}$$

where H is the difference of water height between both compartments (Pascal), T the time (s), H_0 the initial difference in water height (Pascal), y and k parameters to estimate (Jenkinson et al. 2007). The parameter y corresponds to the value of the asymptote reached by the attenuation curve (considered as equilibrium) i.e., the yield stress and k the radius of the curvature.

For each fish, yield stress (y) was expressed as a function of EPS concentration. At low EPS concentrations, yield stress is close to zero because water flow is largely independent of head pressure. However, above a critical EPS concentration, yield stress is positively and linearly related to EPS concentration. This critical EPS threshold was estimated for each fish as corresponding to the intersection point between two linear relationships (Fig. 6). Fish were categorized in 3 classes according to their mass: small (< 6 g), medium (6 to 12 g) and large (> 12 g).

2.3.2. Ventilatory activity

The experimental set up consisted of a 3 l plastic container and a differential pressure sensor interfaced with a computer. Pressure data were recorded continuously using custom-designed software (Rheosol, G. Guillou, Crela-L'Houmeau). Fish were anaesthetized (2-phenoxyethanol, 0.67 ml l⁻¹), weighed and their length measured. A flared polyethylene catheter (PE50 Intramedic) was passed through a hole drilled in the operculum, and secured with a cuff and sutures. Fish were then transferred to a small plastic chamber containing aerated seawater and allowed one hour to recover. The water-filled catheter was then connected to the differential pressure transducer. Opercular pressure during the ventilatory cycle was recorded as described by Shingles *et al.* (2005). Experimental fluff solution was added sequentially to the holding container and 10 minutes after each addition the changes in opercular pressure amplitude and ventilatory frequency were measured during 1 min (Shingles *et al.* 2005). The following fluff dilutions were tested: 0, 5, 10, 15, 20 and 30 % of fluff in sea water. A water sample was collected after each dilution and EPS concentration was assayed.

In order to discriminate the effects of the mineral and organic fractions of the fluff, the same protocol was applied using mud samples treated beforehand with hydrogen peroxide

(H₂O₂) in order to destroy the organic fraction of the experimental fluid (Parker, 1983). In both cases 6 soles were tested (11.8 ±2.7 cm, 15.9 ±5.7 g).

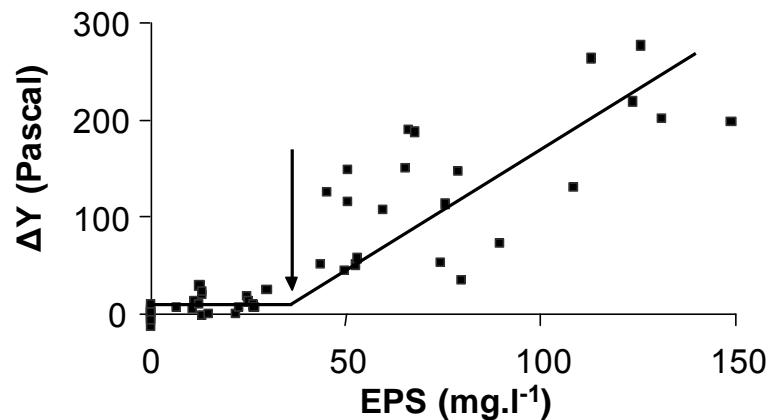


Figure 6. Example of the relationship between ΔY (yield stress) and EPS concentration for fish of equal size. The arrow indicates the inflection point, i.e. the $[\text{EPS}]_{\text{crit}}$.

2.3.3. Oxygen consumption

Sole were used to test the impact of fluff upon SMR and critical oxygen concentration ($O_{2\text{crit}}$). The experimental set up was similar to that described in Lefrançois and Claireaux (2003). Briefly, two respirometers (1.16 l) were used in parallel. These respirometers were placed in a larger tank which contained thermoregulated water (15 °C). Water oxygenation was regulated via a counter-current gas equilibration column placed upstream from the respirometer and bubbled with air, in control condition, or nitrogen to induce hypoxia. Respirometers were supplied with water from the outer tank at a flow rate of 2-3 l min⁻¹ via a pump connected to a timer. Oxygen concentration in respirometers was measured using oxygen probes (Orbisphere Laboratories 27141) connected to a multichannel oxygen

measuring system (Orbisphere Laboratories 2610) and a computer. Two pumps ensured water homogenisation inside the respirometers. Oxygen probes were calibrated daily. Determination of oxygen consumption was carried out after turning off the pump controlling water supply to the respirometers. This pump was turned off automatically for 15 min and the water oxygen concentration C_wO_2 was continuously recorded. In order to ensure an appropriate equilibrium between fish oxygen demand and the lag time of the experimental set-up, only the last 7 minutes of each 15-minute oxygen monitoring periods was used to calculate oxygen consumption.

2.3.3.1. Standard metabolic rate

Sole standard metabolic rate (SMR) was determined 2 days after fish were placed in the respirometers. Three situations were tested. In the first case ($n = 8$; $w = 12.85 \pm 1.00$ g), a thin layer of sand was spread on the bottom of the respirometer and this was considered as an EPS-free control condition. The second situation ($n = 6$; $w = 13.25 \pm 1.52$ g) allowed testing the effects of EPS on basal metabolic demand when fluff is added to the water (1.13 mg EPS l^{-1}). The third situation ($n = 6$; $w = 13.67 \pm 1.10$ g) tested the effect of fluff previously treated with H_2O_2 to remove organic matter (Parker, 1983). At the end of each experiment, fish were removed from the experimental set-up, the respirometer chambers were closed and background bacterial oxygen consumption was assessed. Fish oxygen consumption ($\dot{M}O_2$ in $mgO_2 h^{-1} kg^{-1}$) was calculated from the net slope of decrease in oxygen concentration in the respirometer and adjusted according to a mass of 25 g as described in Lefrançois and Claireaux (2003). Sole oxygen consumption followed a daily pattern of variation, with higher values observed during the night and lower values during day time. In order to determine SMR, the first decile was used to cut the cumulative distribution curve of each fish $\dot{M}O_2$ data set (Sokal et Rohlf, 1995). This level avoided measurement errors and corrected for the effects of activity. The first decile was calculated for each set of experimental data and averaged per type of substratum.

2.3.3.2. Hypoxia

Following standard metabolic rate determination, nitrogen was bubbled in the gas equilibration column placed upstream from the respirometer chambers and a stepwise decrease (step: 1 mg l⁻¹) in the water oxygenation was initiated (down to 1 mg l⁻¹). At each step, fish oxygen consumption was determined. The relationship between routine metabolic rate and ambient oxygenation level was modelled using the following equation:

$$\dot{M}O_2 = a \ln [O_2] + b \quad \text{Eq. 4}$$

where $\dot{M}O_2$ is the metabolic rate corrected for a body mass of 25 g (mg O₂ l⁻¹ kg⁻¹) and [O₂] the concentration of oxygen in water (mg l⁻¹). The confidence interval (CI_{95%}) of the estimated parameters was calculated.

2.4. Field survey of seasonal and spatial variability in water EPS content

Field EPS concentration was monitored in water samples collected at the interface with the seabed. This survey considered 3 different space scales. At macro-scale (100 km), across the Pertuis Charentais, 10 samples were collected in 4 oyster culture zones presenting different silting up characteristics (Daire, Fouras, Rivedoux, Bellevue; Fig. 7a). The survey was repeated in January, May and September 2005. Samples were collected directly under the metallic frames holding the bags containing oysters. At meso-scale (1 km), 10 samples were collected at 4 sites along a transect parallel to the coast, following the main current direction and crossing an oyster culture zone (Rivedoux; Fig. 7b). This sampling was also repeated in January, May and September 2005. Finally, at micro-scale, we examined the extent to which EPS exuded and accumulated on the bottom at low tide were stirred up by the tidal wave. Six samples were collected in Fouras in January 2005 under a frame holding oyster bags. In that

case, samples were collected every 5 to 15 min over a 45-min-period. Sampling took place during a rising neap tide.

2.5. Fluff characteristics

Samples used for laboratory experiments were first characterized in terms of their water and organic matter content (%). Fluff samples (20 ml) were weighed, dried at 50 °C for 3 days and re-weighed to determine water content. A second set of samples (100 ml) was weighed, dried at 450 °C for 12 hours and re-weighed to determine organic matter content.

Prior to exopolysaccharides (EPS) determination samples were freeze dried, crushed and kept at -20 °C until analysed. EPS contents were measured (triplicate) using the phenolic-sulfuric acid assay developed by Dubois et al. (1956) and modified by Gershakov and Hatcher (1972). Briefly, colloidal carbohydrates were first extracted from freeze dried sediment with hot distilled water (60 °C, 1 h) then precipitated in ethanol. They were measured by colorimetric method using a phenol-sulphuric acid assay with D-glucose dissolved in H₂O used as standard.

Then, to keep only the mineral part of fluff, EPS were removed according to a method adapted from Parker (1983). A volume of 100 ml H₂O₂ was poured in 100 g-fluff samples. At the end of the reaction mineral particules were allowed to settle and water in excess was retrieved and replaced by the same volume of fresh water. This protocol was repeated 3 times with fresh water and twice with sea water.

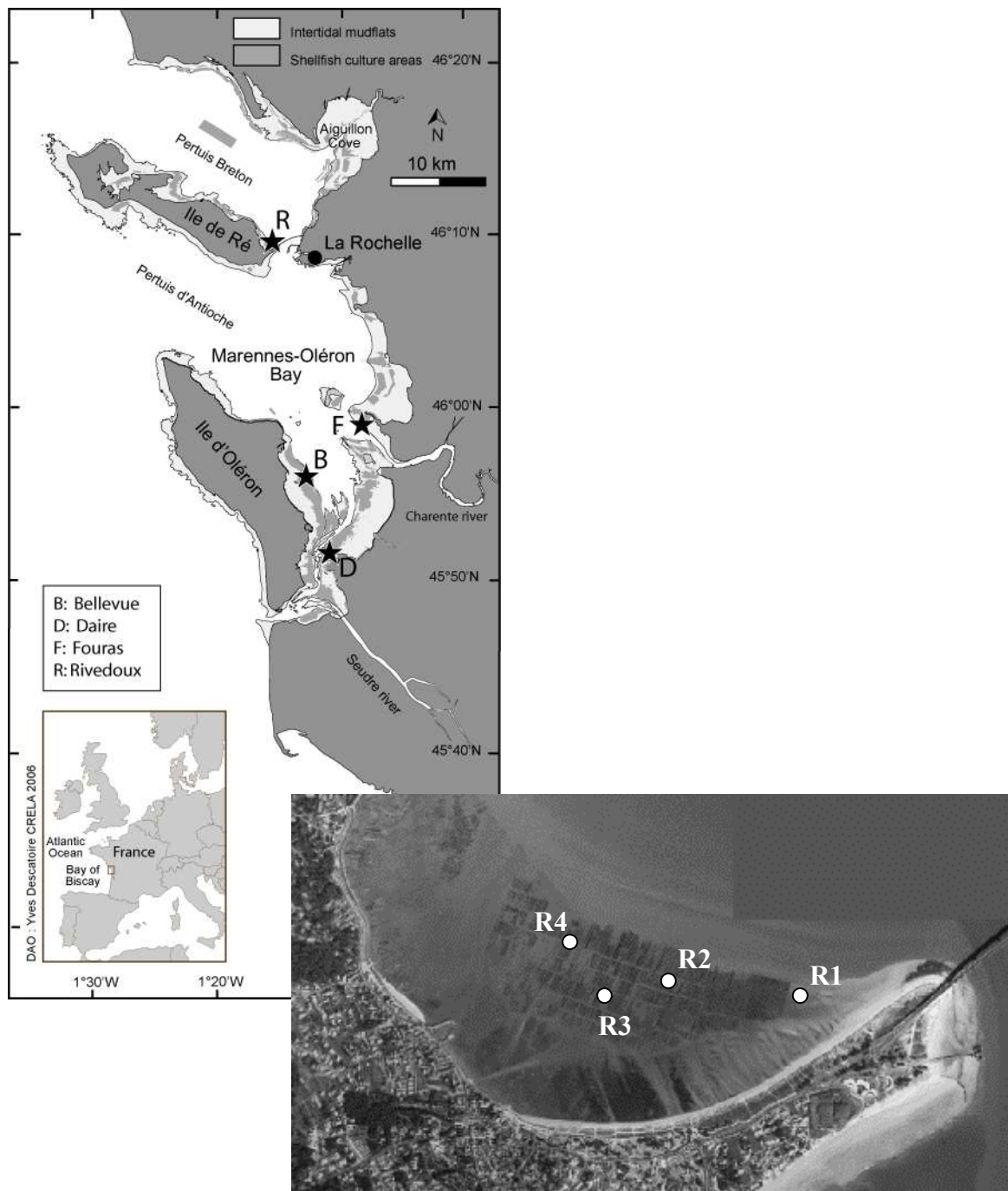


Figure 7. (a) Map of the Pertuis Charentais. White dots (\circ) represent water sampling locations at the interface with seabed. The sample sites are oyster culture zone (dark grey). R: Rivedoux, F: Fouras, D: Daire, B: Bellevue. (b) Satellite pictures of the Rivedoux site. R1, R2, R3 and R4 are sites sampled respectively before, through and at the end of the oyster culture area (dark patch in the bay) according to the stream.

Viscosity measurements were realised using a Physica MCR 301 rheometer (Anton Paar, Courtaboeuf, France) equipped with a cone-plate geometry (PP50/P2-SN3444). The sample thickness was set at 0.1 mm and temperature at 15 °C. Shear rate applied on samples was first increasing from 10^{-6} s^{-1} to 10^{-1} s^{-1} (1 measurement each 4 seconds, 30 measurements), then decreasing from 10^{-1} s^{-1} to 10^{-6} s^{-1} (1 measurement each 10 seconds, 30 measurements). Values of viscosity were obtained from decreasing shear rate measurements at $4.56 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

2.6. Statistics

The effect of size class and species on yield stress was analysed using a two way ANOVA. Maximum pressures during the ventilatory cycle of sole, turbot and solenette were compared using a two way ANOVA (species, size class). The effect of the substratum (sand, mud and EPS-free mud) on standard metabolism was tested using a one way ANOVA. A two way ANOVA was conducted to test the effect of location and time of the year on the EPS content in water samples collected across the Pertuis Charentais. In order to homogenize the number of samples in the inter-sites comparison (Rivedoux, Fouras, Bellevue, Daire), only the 10 samples of the 3rd point (R3) were taken into account in Rivedoux. Post hoc paired comparisons were made using Tukey HSD test with p set at 0.05.

3. Results

When sampling for wild fish, we were unable to collect the appropriate number of plaice in each of the three size categories. Therefore data on plaice were not included in the statistical analysis. However, since they contribute to our arguments, data are presented on Figure 8.

3.1. Biorheological effects of mud

3.1.1. Yield stress

Critical EPS concentration ($[EPS]_{crit}$) i.e., the inflection point in the relationship between yield stress and water EPS content, was influenced by both body size ($p = 0.022$) and species ($p = 0.014$). As shown on Fig. 8, flow was suppressed at higher EPS concentration in larger fish than in smaller fish. Moreover, critical EPS concentration was significantly lower in turbot than in solenette, sole occupying an intermediate position.

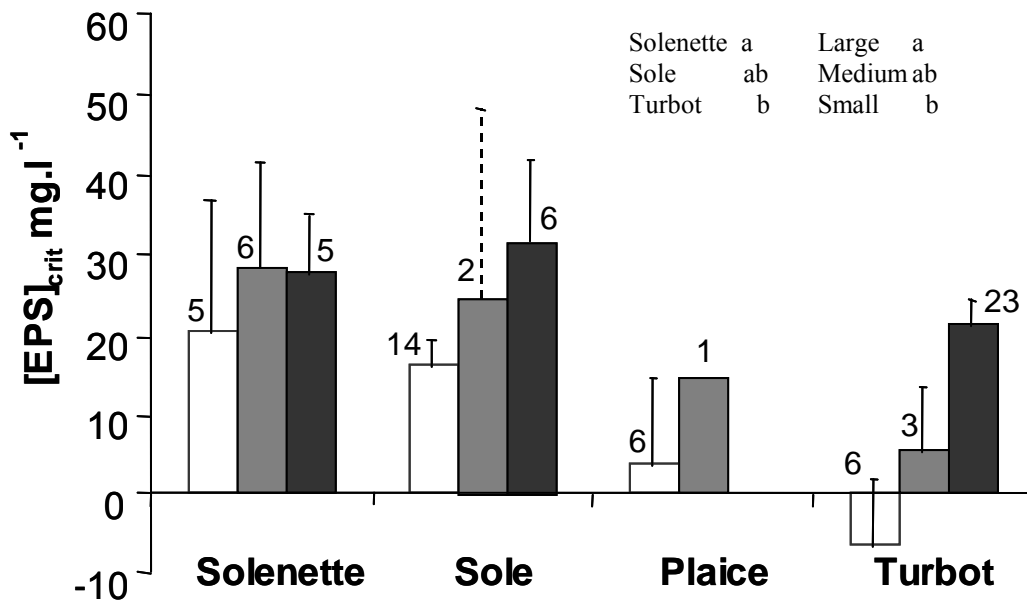


Figure 8. EPS concentration (\pm SEM) from which the four fish species tested (solenette, sole, plaice and turbot) have to increase the ventilatory work, compared to work required in sea water without EPS. \square represents small fish (1.2-6 g), \blacksquare medium fish (6.1-12 g) and \blacksquare large fish (12.1-30.3 g). Figures above bars indicate n. The dotted line represents the maximal value when n=2. Different letters means statistically significant differences of means.

3.1.2. Ventilatory activity

Increasing water EPS content from 0 to 2 mg l⁻¹ resulted in a 1.5 fold increase in sole ventilatory frequency (from 59 to 85 beats min⁻¹; Fig. 9). At that point, the ventilatory response levelled off. A decrease in opercular ventilation frequency was eventually observed for water EPS content > 4 mg l⁻¹. To avoid ventilatory distress, fish were then quickly transferred to EPS-free water where they recovered. The amplitude of pressure changes during the ventilatory cycle displayed a mirror image with an initial decrease between 0 and 1 mg EPS l⁻¹ (from 2.4 to 1.2 Pa) where it levelled off. When the same experiment was conducted with mud-free sea water or EPS-free mud (H₂O₂-treated), no significant change in sole ventilatory activity was observed.

3.1.3. Oxygen consumption

Standard metabolic rate (SMR) of sole was 37.6 ±4.42 mg O₂ kg⁻¹ h⁻¹ on a sandy substratum and 44.2 ±5.41 mg O₂ kg⁻¹ h⁻¹ in muddy conditions. When the organic fraction of mud was removed using H₂O₂, the SMR was 33.3 ±5.41 mg O₂ kg⁻¹ h⁻¹. These values were not statistically different.

Progressive hypoxia led to a parallel decrease in routine metabolic rate (Fig. 10). Critical O₂ concentration (O_{2crit}) i.e., the level of ambient O₂ at which RMR equals SMR, was 2.47 and 2.15 mg O₂ l⁻¹ in EPS-free conditions (sand and treated mud respectively). In EPS loaded water, responses displayed much inter-individual variability in responses. For instance for four fish, O_{2crit} was high (~ 5-7 mg O₂ l⁻¹) while for the other two fish O_{2crit} was low (~ 2 mg O₂ l⁻¹). However, no significant difference was found among the three treatments.

3.2. Fluff characteristics

Fluff used in the current experiment contained 76.95 ± 1.13 % of water. Once dry, fluff contained 87.95 ± 0.61 % of inorganic matter and 12.05 ± 0.61 % of organic matter. Rheometrical analyses highlighted the fact that water viscosity increased exponentially with EPS concentration ($y = 420.84 e^{0.17x}$, $r^2 = 0.76$, $p < 0.001$; Fig. 11).

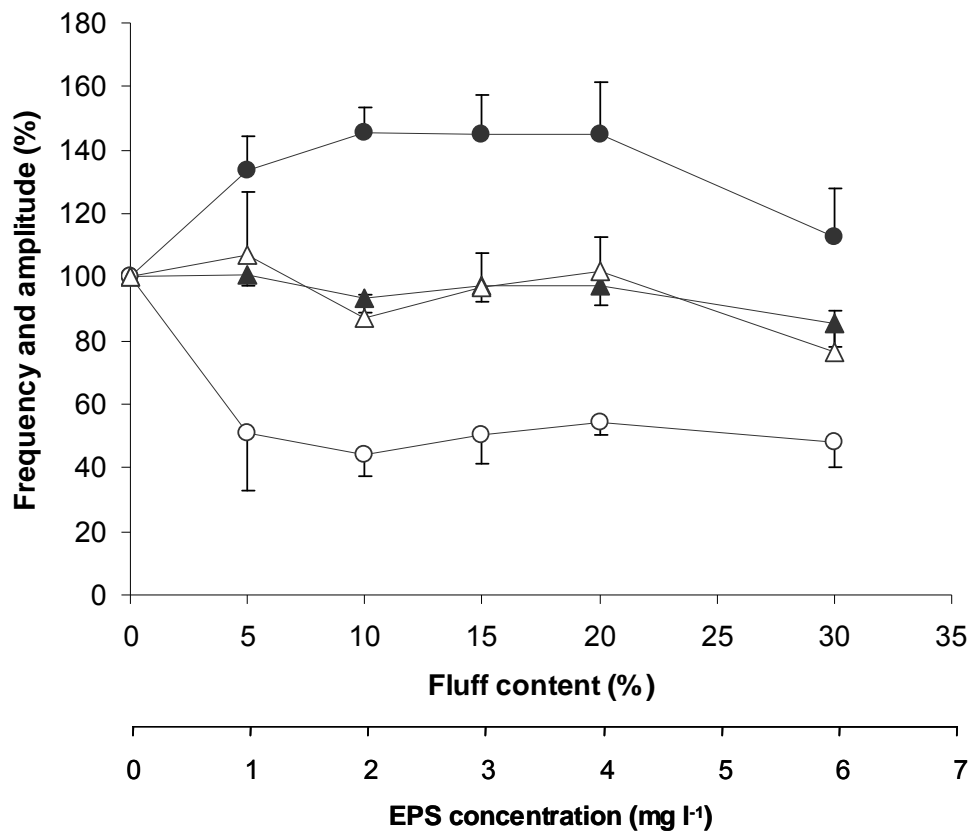


Figure 9. Percentage variation in frequency (closed symbols; mean \pm sem) and pressure amplitude (open symbols; mean \pm sem) of sole opercular ventilation as a function of fluff content, under two treatments: in EPS-free condition (triangles, fluff H₂O₂-treated) and with fluff containing EPS (circles; mg l⁻¹); n = 6.

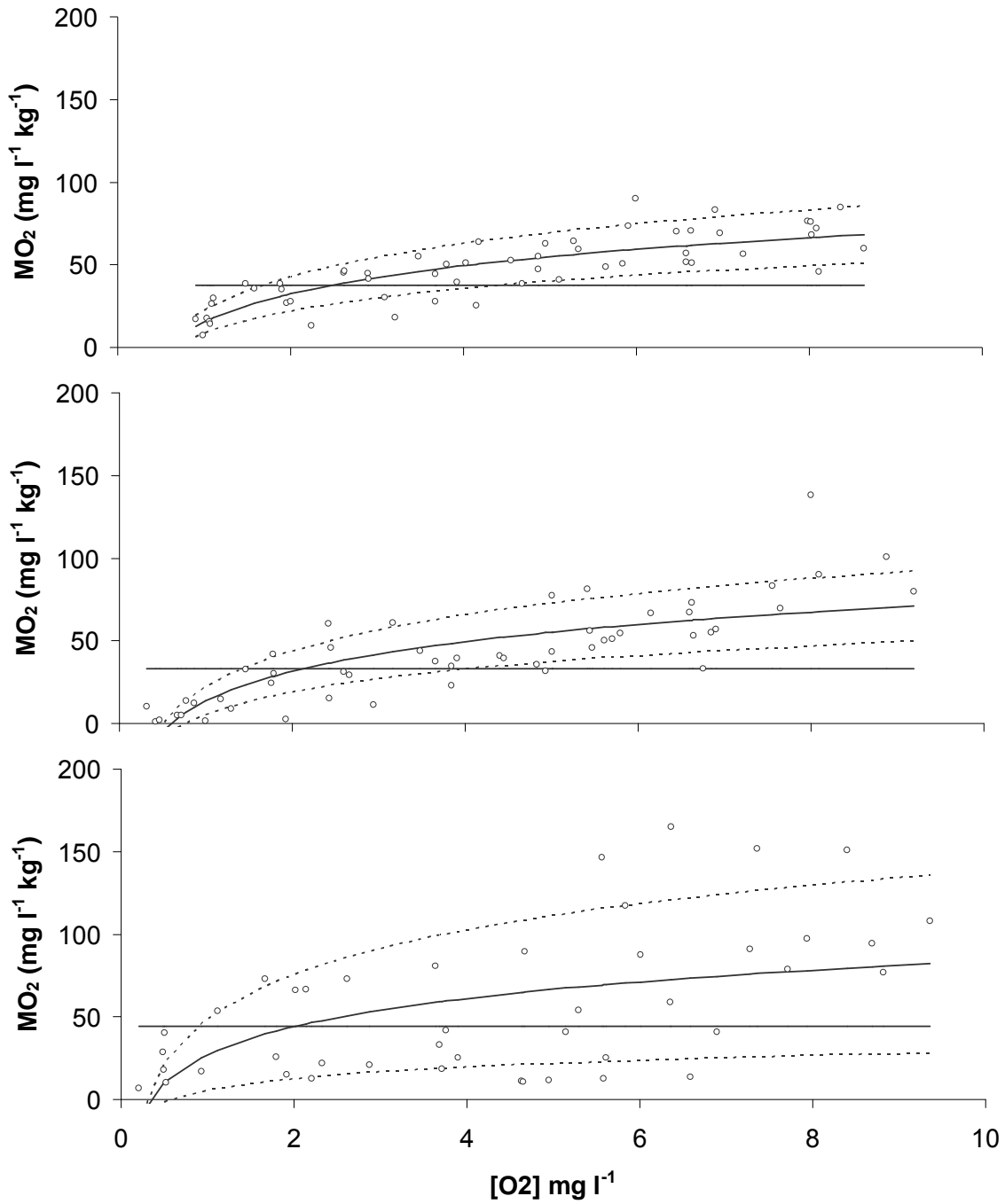


Figure 10. Influence of water EPS and O₂ concentration on metabolism of sole. Solid curve: sole routine metabolic rate (Eq. 2; means \pm IC_{95%}, dashed curves) on (a) sand, $RMR_{\text{sand}} = 24.49 \ln(O_2) + 15.43$, (b) fluff containing 1.13 mg EPS l⁻¹, $RMR_{\text{fluff}} = 24.59 \ln(O_2) + 27.14$ and (c) EPS-free fluff, $RMR_{\text{free}} = 25.91 \ln(O_2) + 13.47$. Horizontal solid lines: standard metabolic rate (SMR).

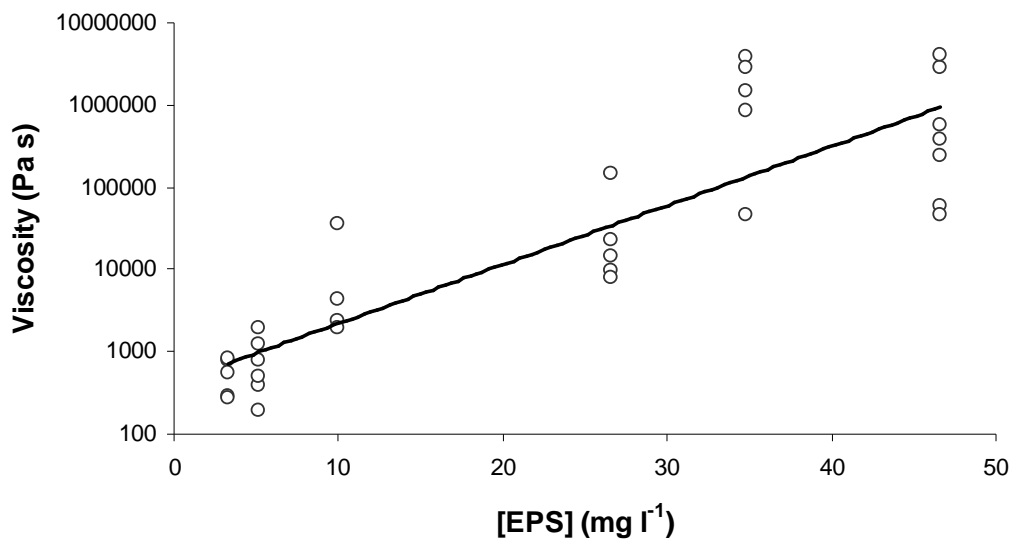


Figure 11. Rheological properties of mud. Exponential relationship between EPS concentration (mg l^{-1}) and viscosity (means \pm SEM, $n = 32$; $\text{Viscosity} = 420.84 e^{0.165\text{EPS}}$; $r^2 = 0.77$).

3.3. Spatial and temporal variability of EPS content

Across the Pertuis Charentais, water EPS concentration at the interface with the sediment was comprised between 0.2 and 15 mg l^{-1} . At macro-scale, in the 4 oyster culture zones sampled, results showed a significant increase in EPS concentration in spring and late summer (May and September 2005; $p = 0.0005$) compared to winter (January 2005) and a significant difference between sites ($p = 0.0089$; Fig. 12a).

In Rivedoux, the meso-scale survey showed the same seasonal trend with higher values in May ($p = 0.0028$; Fig. 12b). EPS load was significantly higher at the 3rd station compared to the other stations ($p = 0.04$) and a significant interaction between stations and seasons was found ($p < 0.001$).

Micro-scale survey (Fouras), showed that EPS concentration decreased with time as tide was rising ($\div 6$ in 40 minutes; Fig. 12c), suggesting that turbulence was sufficient to stir up a part of the EPS exuded by diatoms during low tide.

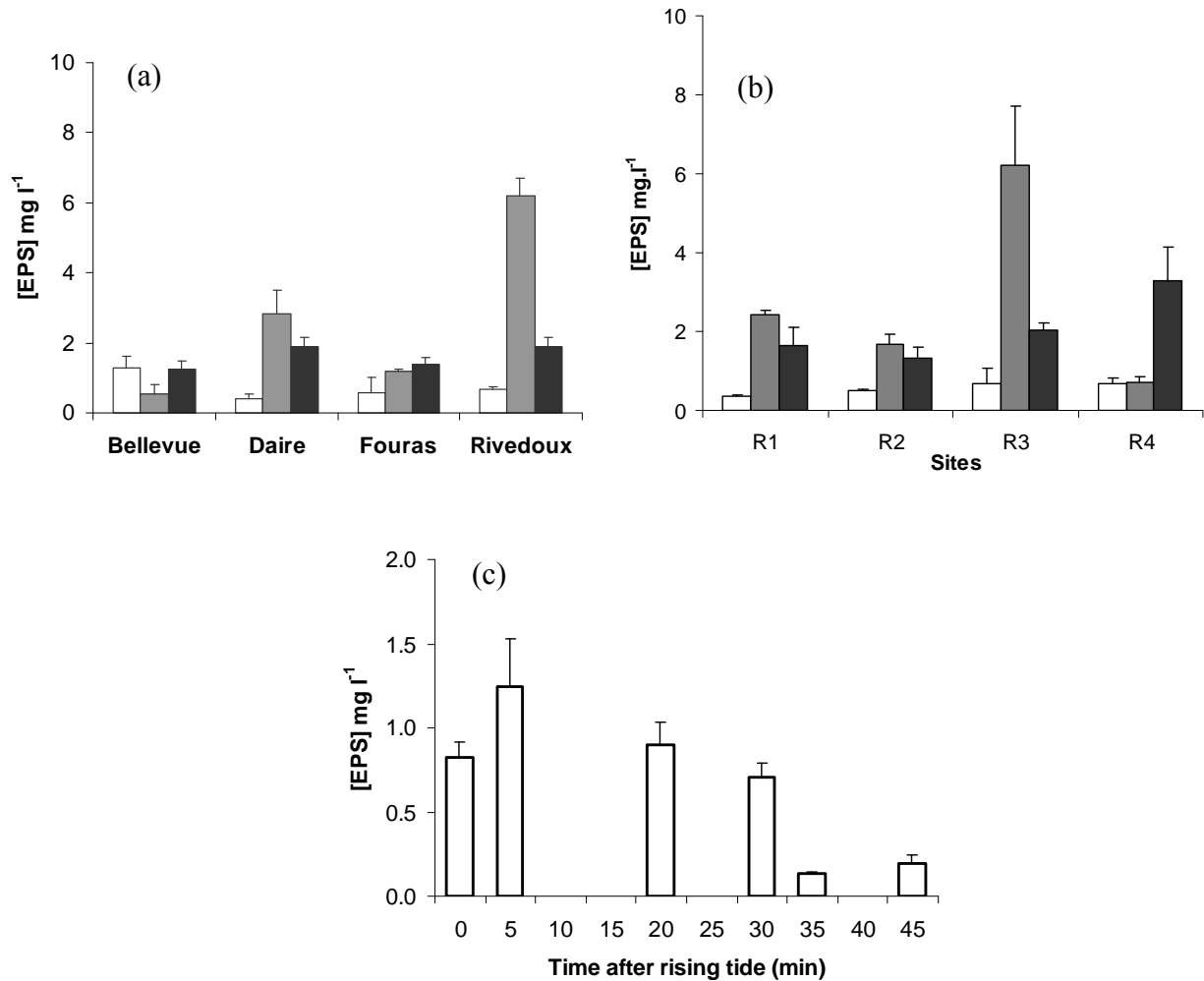


Figure 12. EPS concentrations in water at the interface of seabed (mean \pm SEM) measured at 3 different scales (a) Measures realised at 4 sites in the Pertuis Charentais in oyster culture areas. (b) Measures realised at 4 sites of an oyster culture area in the Bay of Rivedoux. (c) Measures realised at the same point of an oyster culture zone at various times after the tide started to rise. \square January 05, \blacksquare May 05 and \blacksquare September 05. For (a) and (b), $n = 10$ samples at each point and each month, for (c) $n = 1$ sample at each point.

4. Discussion

We demonstrated that increased water EPS load creates biologically significant mechanical constraints upon ventilatory flow in juvenile flat fishes. Moreover, the rheological impact of EPS was more pronounced upon smaller fish and was species-dependent. In the field, water EPS concentration displayed spatial and temporal variability and was influenced by local hydrodynamic conditions. In some of the shellfish farming areas we examined, EPS concentrations reached 15 mg l^{-1} , a level which we demonstrated can exert physiological limitations.

4.1. Biological effects

The relationship between yield stress and water EPS content is biphasic (Fig. 6) with a first segment which is relatively flat until a critical EPS concentration is reached. Above that point, yield stress increases regularly with water EPS content. Jenkinson et al. (2007) revealed that this inflection point corresponds to a functional threshold above which the respiratory pump is unable to counterbalance the viscous forces generated by the EPS load. Indeed, during the ventilatory cycle, the maximum head pressure generated by young fish in EPS free-sea water ranged between 0.6 and 1.5 Pa. This value is rapidly exceeded above $[\text{EPS}]_{\text{crit}}$ (Fig. 6). No value for ventilatory pressures has been previously reported in literature for such small animals, to allow us to draw comparisons with our data.

Flow patterns through fish gill cavity are essentially determined by physical constraints, namely fluid characteristics, speed of flow and characteristics of solid surface in contact with the moving fluid (Schlichting, 1987). Viscosity is an important characteristic of fluids because it quantifies the amount of internal friction or resistance to flow. The higher the

viscosity, the stronger the pressure that must be applied to the fluid to initiate flow. Accordingly, we found that yield stress increased with EPS content of the ventilatory medium. Furthermore, wall effects in buccal and gill cavities of fish are particularly significant. When a fluid flows over a stationary surface such as branchial basket, the fluid molecules in contact with surfaces are brought to rest by the shear stress. As a result, a boundary layer exists within which fluid velocity increases from zero at the gill surface to a maximum in the free stream. In a gill curtain comprising primary and secondary lamellae, the smaller the distance between adjacent lamellae, the lower the water velocity between them. Accordingly, we found that smaller individuals exhibited a higher yield stress than larger ones. As fish grow, the distance between secondary lamellae increases (Hughes, 1984), as does the total volume of their buccal and opercular cavity (Kalinin *et al.*, 2000). Thus, the volume available to water flow is larger in larger fish and the mean water velocity in the free stream is potentially higher.

The species-specific response to increased EPS load may result from morphological differences. The mass of the gill apparatus of turbot is 2.1 fold that of a sole of similar size and morphometric differences in fish gills of different species were shown to determine resistance to water flow (Hughes et Shelton, 1958). We showed that $[EPS]_{crit}$ as a function of gill mass is higher in sole than for turbot (Fig. 13), hence turbot is more sensitive to EPS load than sole. Furthermore, although we did not measure it directly, we can suppose that increased gill mass implies more surface area. This would be in accordance with previous observations showing that species with high metabolic rate are likely to have more developed gill apparatus with larger gill area, narrow spaced lamellae and longer filament making resistance to flow more elevated (Hughes, 1966). Indeed, for instance at 20 °C, AMR of a 100 g-turbot (Mallekh et Lagardère, 2002) is 1.9 fold higher than that of sole (Lefrançois et Claireaux, 2003). Accordingly, it is noteworthy that the AMR of a 100 g-plaice is 1.4 fold that of sole at the same size (Preide et Holliday, 1980). Unfortunately, we were unable to find published data on the relationship between gill size and body size for plaice or solenette. Therefore, because of

their large gill apparatus, there is greater resistance to flow of viscous medium in turbot and plaice and therefore they are more likely to be susceptible to changes in water viscosity.

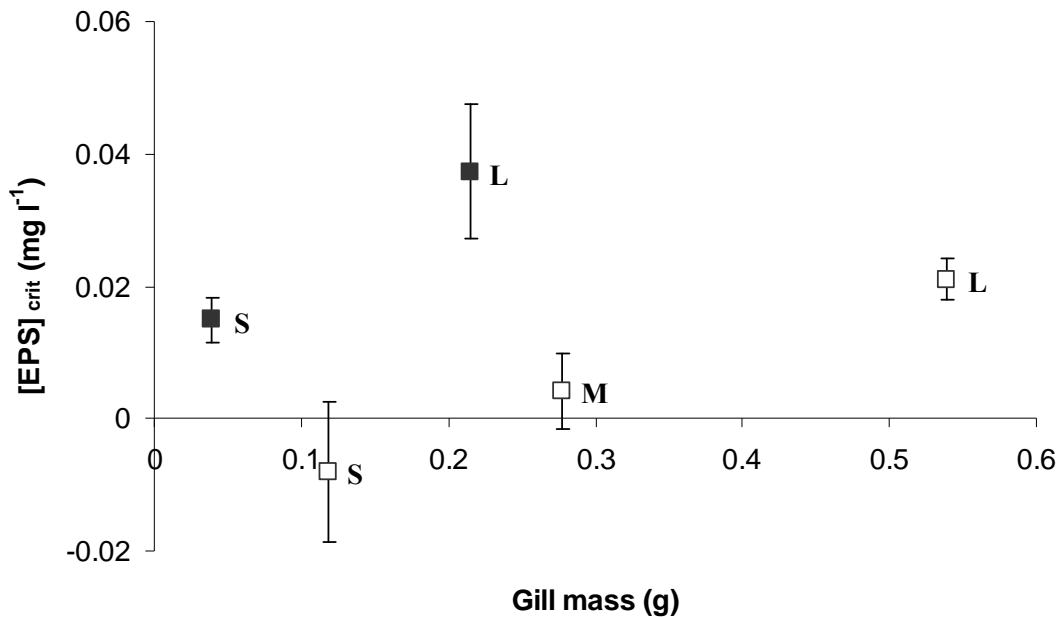


Figure 13. [EPS]_{crit} (mg.l⁻¹) as a function of gill mass in sole (■) and turbot (□) for 3 size classes (S < 6 g, 6 < M < 12 g, L > 12 g). No measurement for medium sole was possible.

In spite of their relative tolerance to [EPS], the ventilatory activity of sole was perturbed in a viscous medium. Opercular ventilation frequency increased with increasing water EPS concentration. Typically, increased ventilatory frequency is observed in situations involving increased metabolic demand (e.g., swimming, (Roberts, 1975; Altamiras *et al.*, 2002; Wilson *et al.*, 2002) or reduced oxygen availability (e.g., (Maxime *et al.*, 2000; MacCormack *et al.*, 2003). Under these conditions, increased ventilatory frequency is generally associated with an increase in the amplitude of sub-opercular pressure excursions during the ventilatory cycle (Maxime 2000; turbot). Together, these reflex responses increase the ventilatory volume, and so enhance the transfer of oxygen into the blood (Jensen *et al.*, 1993). In the current study, the response of juvenile sole to increased water viscosity

comprised a sharp increase in ventilatory frequency associated with reduced sub-opercular pressure changes. Presumably, frictional forces in the viscous medium interfered with the ability of the ventilatory pump to generate pressure, and so fish exhibited a compensatory increase in frequency in order to maintain gill irrigation. This is clear evidence of respiratory distress and, indeed, at EPS concentrations $> 4 \text{ mg l}^{-1}$, ventilation was completely inhibited and sole had to be quickly transferred to EPS-free water. At this point, frictional forces either exceeded the power of the ventilatory pump and/or resulted in muscular exhaustion (Maxime *et al.*, 2000; Wilson *et al.*, 2002) in relation with the sequential increases in fluff concentration.

Although exposure to fluff influenced ventilation patterns, this was not related to any significant effects upon SMR. The absence of any effect of fluff on basal metabolic demand indicates that sole were able to meet their minimum oxygen requirements despite the increased viscosity of their respiratory medium. However, results upon $[\text{EPS}]_{\text{crit}}$ suggested a species-specific degree of constraint imposed by EPS, that varied with the active metabolic rate of the four species studied. Therefore, we might assume a species-specific impact of the EPS load in water upon their respective standard metabolic rate and thus critical oxygen concentration in water ($\text{O}_{2\text{crit}}$).

We initially hypothesized that increased EPS load and associated increased ventilatory work would result in reduced tolerance to hypoxia. Thus, an increase in the critical oxygen concentration ($\text{O}_{2\text{crit}}$) was expected in sole maintained on a muddy substratum. Our data did not provide strong evidence for this. Animals on both sand and H_2O_2 -treated fluff exhibited a similar metabolic response to hypoxia and shared a very similar $\text{O}_{2\text{crit}}$ of about $2 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$. On the contrary, animals in fluff exhibited a more variable metabolic response and, although their $\text{O}_{2\text{crit}}$ was not statistically different from that of the other two groups, Fig 10 shows that some animals on the fluff displayed immediate decline in the metabolic rate in hypoxia. This was never observed in sole exposed to either sand or treated mud. This indicates that some animals

within a sole population may experience problems with maintaining both routine activities and also their minimal metabolic requirements if exposed to hypoxia when on fluff, whereas this appears not to be true for the other two substrata. Thus, although our data did not provide a statistically significant effect, there may nonetheless be an ecologically significant effect within a population of sole that attempts to colonise an area where the substrate contains high concentrations of EPS. Clearly, we might have found a significant effect on hypoxia tolerance if we had tested higher fluff concentrations ($> 2 \text{ mg l}^{-1}$).

4.2. Impact of shellfish farming facilities on mudflats characteristics and ecological implications

Fluff organic content we measured in the vicinity of oyster culture zones are in accordance with values reported in the literature (Ragnarsson et Raffaelli, 1999; Hartstein et Rowden, 2004). These values are approximately 6 times higher than the values reported for oyster free areas (Vouvé, 2000). EPS accumulation was more intense toward the centre of shellfish culture zone and this is probably due to reduced hydrodynamics in these areas (Hartstein et Rowden, 2004). Our survey also revealed that biodeposition was variable among sampling sites, probably in relation with differences in local conditions (Le Hir *et al.*, 2005) and in densities of bivalves being cultured. EPS load also displayed seasonal variations. Oyster filtration activity is closely correlated with seasonal elevations in temperature, doubling between 5 and 20 °C (Bougrier *et al.*, 1995). Likewise, seasonal changes in microphytobenthic development and EPS production have been documented (Underwood et Paterson, 1993; Underwood, 1994). These seasonal cycles have an influence on fluff organic/inorganic matter ratio. Sornin *et al.* (1983) showed that biodeposits contain a high proportion of mineral particles in winter, whereas the organic fraction was significantly increased (+ 37 % organic carbon in sediments) in spring and summer.

5. Conclusions

This study provided insight into the potential ecological significance of biodeposition, and the extent to which this might determine the quality status of mudflats as nursery grounds for juveniles of benthic fish species. We demonstrated that the EPS levels measured in the vicinity of intensive bivalve rearing facilities can have profound size-dependent and species-specific effects on gill water flow and ventilation in young flatfish. Various technical limitations prevented us from testing fish less than 5 cm in length but data already available (Jenkinson *et al.*, 2007) indicate that constraints imposed by water EPS load will be even more pronounced in smaller fish, with potentially greater ecological consequences. Our results suggest that flatfish species with large gill areas will be at greater risk of the negative effects of EPS. This species-specific effect is therefore liable to alter the species composition of young fish communities occupying coastal mud flats. This effect is probably reinforced in systems that are subject to hypoxic events, where there will be even greater selective pressures upon the ability of a given individuals to extract oxygen from sea water.

6. Acknowledgements

Authors would like to thank Y. Desaunay, J. Grison, G. Guillou and M. Bréret for their technical assistance, C.C. was the recipient of a PhD fellowship from the Conseil Général de Charente Maritime. The financial support by the European Union, Directorate Fisheries, through contract QLRS-2002-00799, Project ETHOFISH, is also acknowledged.

Synthèse

Cette étude a permis de mettre en évidence les effets de la viscosité de l'eau sur l'activité ventilatoire des juvéniles de poissons plats. Le seuil d'écoulement de l'eau, c'est-à-dire la pression minimale que doit générer la sole pour ventiler, est proportionnel à la teneur en EPS dans le milieu ventilé. En effet, le travail ventilatoire de la sole augmente avec la viscosité et est maximal à partir de 2 mg EPS l⁻¹. La concentration d'EPS critique ($[EPS]_{crit}$) dépend de l'espèce et de la taille de l'individu. $[EPS]_{crit}$ est plus faible chez les animaux les plus petits et chez les espèces à fort taux métabolique (turbot, plie). Ces différences pourraient dépendre de la morphologie des branchies et de la cavité bucco-branchiale. En effet, à masse égale, les branchies du turbot sont deux fois plus développées que celles de la sole. Il existe donc un lien entre le taux métabolique maximal (les besoins en oxygène) et la taille des branchies. Or des branchies plus développées semblent imposer une résistance supplémentaire au passage de l'eau.

Le système expérimental que j'ai utilisé, n'a pas permis de mesurer l'effet de la viscosité de l'eau sur des poissons de taille inférieure à 5 cm. Cependant, mes résultats montrent que l'accroissement de viscosité causée par l'accumulation d'EPS à la surface des vasières est potentiellement un facteur limitant des performances énergétiques des jeunes larves. Sur la vasière, bien que la concentration en EPS montre une certaine variabilité spatiale et temporelle en fonction des conditions hydrodynamiques locales, elle peut atteindre 15 mg l⁻¹ dans les endroits où la remise en suspension est faible. En outre, les différences inter-spécifiques observées suggèrent également que la charge en EPS les eaux littorales est de nature à altérer la composition spécifique des communautés de juvéniles qui occupent les vasières intertidales. Cet effet est probablement renforcé dans des systèmes sujets à des épisodes hypoxiques, la pression de sélection sur les individus les moins aptes à extraire de l'oxygène étant alors plus forte.

D'autre part, l'augmentation de la viscosité de l'eau peut entraîner une réaction d'évitement des zones où la viscosité est élevée et réduire la surface de l'habitat. Ce comportement pourrait ainsi conduire à une occupation de zones où la nourriture disponible est modifiée. Ceci obligerait le poisson à changer son régime alimentaire, possiblement plus pauvre. La concentration des individus sur un territoire réduit pourrait également conduire à l'augmentation de la compétition intra- et interspécifique et du taux de rencontre avec les prédateurs. Or ces modifications sont de nature à réduire le taux de croissance ou de survie des poissons et à terme, modifier leur fitness.

- Chapitre II -

Influence du niveau d'oxygénation de l'eau sur la
croissance : Bioénergétique de la fonction digestive.



1. Introduction

Depuis une trentaine d'années, la fréquence et l'amplitude des épisodes hypoxiques observés dans les eaux côtières se sont accrues régulièrement (Diaz et Rosenberg, 1995; EEA, 1999; Wu, 2002; UNEP, 2004). La diminution de la teneur en oxygène dans ces eaux résulte d'un déséquilibre entre les processus qui consomment de l'oxygène et ceux qui participent à la réoxygénation des masses d'eau. L'oxygène dissous est issu de la diffusion de l'oxygène atmosphérique et de l'activité photosynthétique des végétaux. Parmi les processus consommateurs d'oxygène, les plus significatifs sont la dégradation et la reminéralisation de la matière organique. L'eutrophisation des milieux côtiers est généralement associée à un déséquilibre entre les processus pourvoyeurs et consommateurs d'oxygène. L'eutrophisation correspond en effet à l'enrichissement du milieu en nutriments (nitrates, phosphates). Ces nutriments sont issus du lessivage des sols ou des rejets domestiques ou industriels. L'implantation de fermes aquacoles le long des côtes et dans les estuaires contribue également à l'enrichissement des écosystèmes côtiers en matières organiques et donc au déséquilibre entre consommation et renouvellement de l'oxygène dissous (Sornin, 1983; EEA, 1999; Chen *et al.*, 2007). L'eutrophisation s'accompagne de la multiplication rapide des végétaux aquatiques. Lorsque leur consommation d'oxygène, *via* la respiration, est supérieure à leur production *via* la photosynthèse, le milieu s'appauvrit en oxygène. Cette baisse de l'oxygénation de l'eau est amplifiée par trois processus. Tout d'abord, la zone photique (profondeur de pénétration de la lumière) est réduite par l'accumulation des végétaux dans la colonne d'eau. Les algues ne reçoivent plus suffisamment de lumière pour réaliser la photosynthèse et produire de l'oxygène. D'autre part, les processus physiques qui permettent de réoxygéner l'eau (diffusion) sont lents et parfois freinés par la stratification des masses d'eau due à la température et/ou la salinité. De plus, la dégradation de la matière organique qui enrichit le milieu et celle des algues qui finissent par mourir, nécessite de l'oxygène et amplifie le déséquilibre (Cloern, 2001).

La consommation d'oxygène dissous est surtout problématique dans des milieux fermés ou semi-fermés (estuaires, baies, golfes ou lagunes) où le renouvellement de l'eau est plus limité qu'en milieu ouvert (plein océan). Bouchet *et al.* (2007) ont réalisé un suivi de la concentration en oxygène à 15 cm au dessus du fond dans un parc ostréicole au sud de la baie de Marennes-Oléron (France). Cette étude a mis en évidence une chute de l'oxygénation de l'eau en dessous de 40 % de saturation durant plus de 10 jours dont 4 jours successifs à 20 %, concentration létale pour la majorité des espèces de poisson.

Les premiers effets de l'hypoxie sur la physiologie des organismes apparaissent bien au delà des concentrations létales. La raréfaction de l'oxygène affecte les voies métaboliques aérobies et par conséquent les sources d'énergie de l'organisme (Davis, 1975). Par exemple, chez la sole, une chute de la concentration en oxygène dissous de moitié entraîne une baisse du taux métabolique actif de 34 % par rapport à la normoxie (15 °C) (Lefrançois et Claireaux, 2003).

Cette limitation de l'énergie disponible conduit à une hiérarchisation de l'allocation d'énergie privilégiant celles dont dépend sa survie. La croissance fait partie des activités qui sont pénalisées lors d'un événement hypoxique. Une réduction du taux de croissance a couramment été observée comme le premier signe d'une limitation physiologique due à l'hypoxie (Brett, 1979; Chabot et Dutil, 1999; Pichavant *et al.*, 2000; Chabot *et al.*, 2001; Chabot et Couturier, 2002; Wu, 2002; McNatt et Rice, 2004; Eby, 2005). Chez la morue *Gadus morhua*, on observe une réduction du taux de croissance en masse à partir de 73 % de saturation et une réduction du taux de croissance en longueur à partir de 65 % de saturation (Chabot et Dutil, 1999). La réduction du taux de croissance est généralement corrélée à une diminution de la prise alimentaire et parfois à une baisse du taux de conversion de la nourriture ingérée en masse corporelle (Stewart *et al.*, 1967; Brett et Blackburn, 1981; Pedersen, 1987; Chabot et Dutil, 1999). Cette réduction de la prise alimentaire permet de

réduire la dépense énergétique globale de l'animal (réduction des coûts énergétiques de recherche de nourriture, digestion et assimilation).

Dans ce contexte, j'ai émis l'hypothèse que chez la sole, la réduction du taux d'ingestion observée en hypoxie était liée à la réduction de la capacité métabolique de l'animal, c'est-à-dire à la quantité d'énergie disponible afin de réaliser les activités liées aux processus de digestion.

Afin d'examiner les liens entre performances de croissance, digestion et registre métabolique chez la sole, j'ai suivi deux approches complémentaires. Dans un premier temps, je me suis intéressée à la variation du taux de croissance en fonction du niveau d'oxygénation de l'eau. Pour cela, une expérience a été menée durant deux mois. J'ai comparé la croissance de deux lots de poissons, l'un maintenu en normoxie et l'autre en hypoxie. Le lot exposé à l'hypoxie, a subi deux traitements consécutifs. Le premier niveau était de $2,5 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$, soit 30 % de sat. Le second niveau était de $3,4 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$, soit 40 % de saturation à l'air. Dans un deuxième temps, j'ai étudié le déroulement du processus digestif, en analysant la dynamique de la consommation d'oxygène durant la période post-prandiale (SDA : *Specific Dynamic Action*). Au cours de cette expérimentation, je me suis particulièrement intéressée aux effets de la taille du repas et du niveau d'oxygénation de l'eau ($8,4$, $3,4$ et $2,5 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$, soit 100, 40 et 30 % de saturation).

2. Effet de l'oxygénation de l'eau sur la croissance

2.1. Matériels et méthodes

2.1.1. Poissons expérimentaux

Les soles (14.22 ± 0.29 g; 11.59 ± 0.09 cm) ont été capturées au chalut dans l'anse de l'Aiguillon (France) en septembre 2005. A leur arrivée au laboratoire, elles ont été transférées dans des bassins de 400 l alimentés en eau de mer filtrée sur biofiltre et recirculée (taux de renouvellement : ~30 % par semaine). Au cours des phases d'acclimatation au laboratoire (3 semaines) et d'expérimentation, la photopériode et la température ont suivi leur cycle naturel. Trois fois par semaine, les poissons ont été nourris à satiété avec des granulés (IDL Solea Go 3 mm, INVE Aquaculture Nutrition, Calonne-sur-la-Lys, France).

2.1.2. Montage expérimental

Le montage (Fig. 14) consistait en 4 bassins de 400 l dont 2 étaient hypoxiques et 2 normoxiques. Les conditions expérimentales ont été attribuées aléatoirement aux bassins. Une couche de sable de 1 à 2 cm d'épaisseur recouvrait le fond des bassins. L'eau alimentant les bassins circulait en circuit fermé. Elle était filtrée sur filtre biologique et renouvelée à raison de ~ 30 % par semaine. L'oxygénation de l'eau était régulée grâce à des colonnes d'équilibration placées en amont des bassins et alimentées en air (normoxie) ou en azote (hypoxie). L'eau du bassin était envoyée dans la colonne grâce à une pompe et retournait dans le bassin par gravité ($\sim 2 \text{ l min}^{-1}$). Le niveau d'oxygénation de l'eau était régulé automatiquement (LoliOxy, Loligo, Denmark) à 100 % (normoxie) à 40 % (hypoxie modérée

et 30 % (hypoxie sévère) de saturation à l'air. Un système composé de 4 vannes solénoïdes (Omega, Laval, Qc, Canada) permettait d'amener alternativement et par gravité, l'eau de chaque bassin à un système de mesure de la concentration en oxygène dissous (Fig. 15 ; FTC-PSt3, PreSens, Regensburg, Allemagne). L'oxygénation de l'eau et la température ont été suivies en continu durant toute la durée de l'expérience avec une valeur enregistrée toutes les 3 minutes alternativement dans chacun des bassins.

2.1.3. Protocole

Au début de l'expérience, 112 poissons ont été marqués (VI Alpha tags, 1 mm x 2,5 mm, NMT Inc., Shaw Island, WA, USA), pesés, mesurés puis répartis aléatoirement dans les 4 bassins. Au cours de l'expérience les poissons étaient nourris *ad libitum* entre 19h et 21h avec des granulés (IDL Solea Go 3 mm, INVE Aquaculture Nutrition, Calonne-sur-la-Lys, France). Les rations étaient ajustées régulièrement afin de prendre en compte la croissance des individus.

L'expérience a été réalisée en deux phases successives. Durant la première phase, nous avons comparé la croissance des soles élevées en hypoxie sévère (30 %) à celle des individus maintenus en normoxie. Cette phase de l'expérience a duré 44 jours. Aux jours 0, 28 et 44, les soles ont été repêchées, anesthésiées, identifiées, pesées, mesurées puis replacées dans leur bassin respectif. Durant la seconde phase de l'expérience, nous avons comparé la croissance des soles élevées en hypoxie modérée à celle des animaux maintenus en condition normoxique. Pour cela, l'oxygénation des bassins hypoxiques a été ajustée à 40 % de saturation. Cette phase a duré 33 jours. Comme précédemment, au jour 77, les soles ont été repêchées, anesthésiées, identifiées, pesées, puis mesurées. Le jour précédant chaque échantillonnage, le bullage d'azote et l'alimentation des poissons des 4 bassins ont été

interrompus jusqu'au lendemain de l'échantillonnage (~ 40h), afin de limiter les effets combinés de l'hypoxie et de la manipulation.

A cours de l'expérience, 21 poissons sont morts (5 dans le bassin 1, 7 dans le 2, 6 dans le 3, et 3 dans le 4). Ces poissons (en moyenne 13 g et 11,6 mm) sont morts entre leur introduction dans le bassin (jour 0) et l'échantillonnage du jour 28. Il semble donc qu'ils soient morts en raison du stress dû à la manipulation au jour 0.

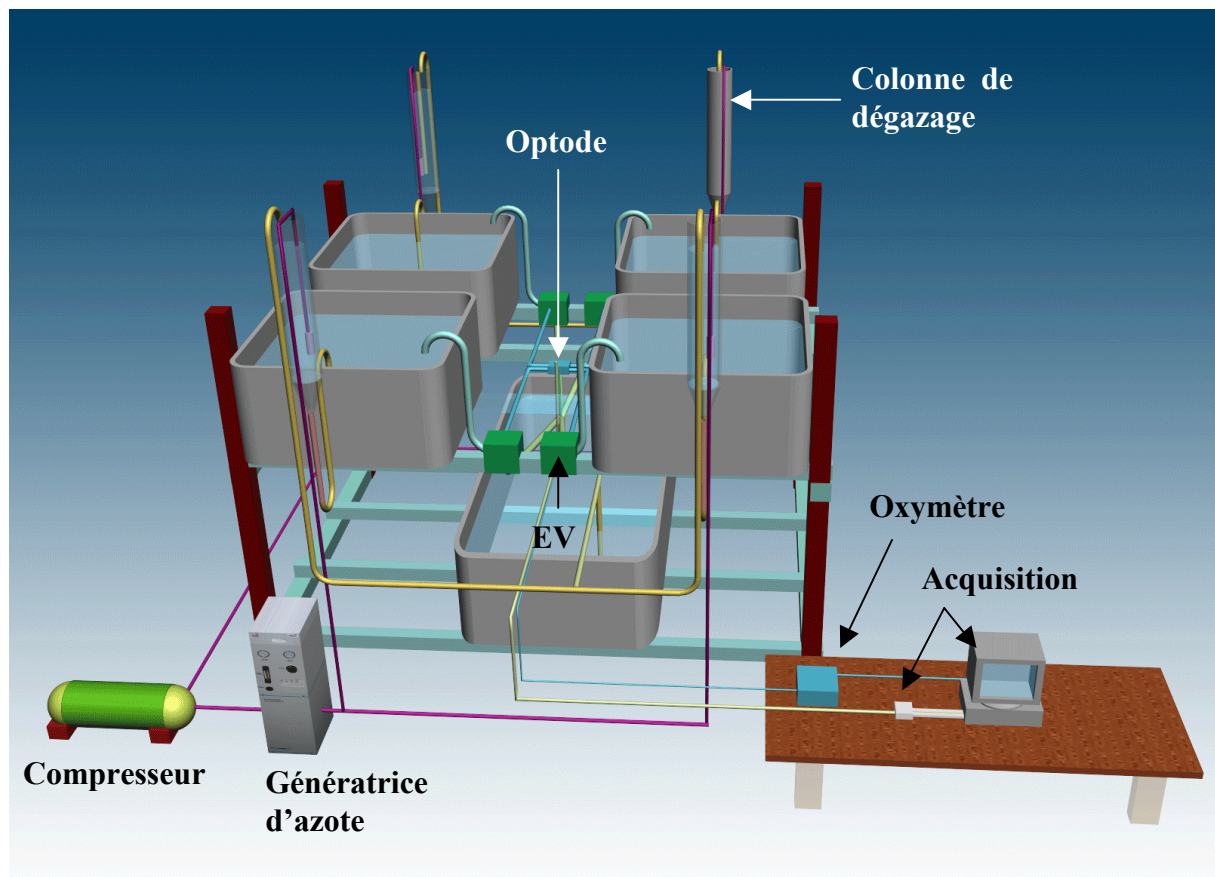


Figure 14. Schéma du montage expérimental de croissance. *EV* : électrovannes (x 4).

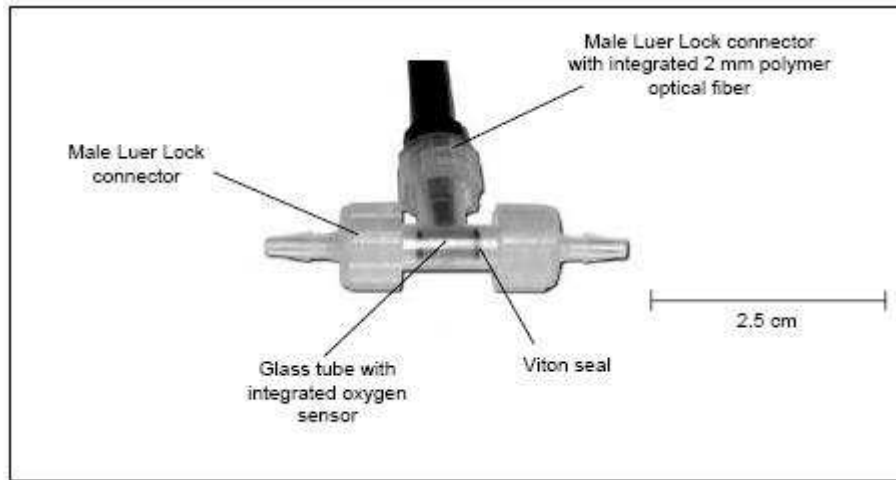


Figure 15. Sonde a oxygène Presens (FTC-PSt3)

2.1.4. Analyses

Seuls les soles ayant été pesées et mesurées lors de chaque échantillonnage ont été incluses dans les analyses statistiques. Par conséquent, les poissons morts au cours de l'expérience n'ont pas été pris en compte dans les analyses. Ainsi, le nombre de poissons inclus dans les analyses pour chaque bassin se porte à $n = 23$ poissons dans le bassin 1, $n = 21$ dans le bassin 2, $n = 22$ dans le 3 et $n = 24$ dans le 4. Pour chaque sole, l'indice de condition de Fulton (K) a été calculé comme suit :

$$K = \frac{100M}{L_s^3} \quad \text{Eq. 5}$$

où M est la masse de la sole (g), LS la longueur standard (cm) et K l'indice de condition de Fulton (g cm^{-3}). Par la suite, la masse, la longueur et l'indice de condition des soles ont été moyennés par bassin pour chaque date d'échantillonnage ($t = 0, 28, 44$ et 77).

2.1.5. Statistiques

Une ANOVA a été utilisée afin de comparer la masse moyenne, la longueur moyenne et l'indice de condition moyen des soles entre chaque bassin expérimental au début de l'expérience (t_0).

Trois ANCOVA ont été réalisées afin de comparer les taux de croissance entre chaque condition expérimentale en termes de masse, de longueur et d'indice de condition moyens. Les variables testées sont le temps (jours d'échantillonnage) et le traitement (« Normoxie 1 » et « Hypoxie 30 » entre le 1er et le 44ème jour et « Normoxie 2 » et « Hypoxie 40 » entre le 44ème et le 77ème jour). Les deux facteurs ont été croisés.

2.2. Résultats

Au cours de la première partie de l'expérience (8,4 vs 2,5 mgO₂ l⁻¹), la température moyenne a été de 18,3 °C (minimum 15°C, maximum 21 °C). Dans la deuxième partie de l'expérience (8,4 vs 3,4 mgO₂ l⁻¹), la température moyenne a été plus élevée, 19,8 °C (minimum 17 °C, maximum 22 °C ; Fig. 16).

Les figures 17 et 18 présentent respectivement la concentration en oxygène dissous dans l'eau de chaque bassin au cours de la première et de la deuxième phase de l'expérience de croissance. Les concentrations moyennes d'oxygène dissous ont été de 7,2 et 7,3 mgO₂ l⁻¹ dans les bassins 1 et 2 et de 2,4 et 2,5 mgO₂ l⁻¹ dans les bassins 3 et 4, durant la première phase expérimentale. Elles ont été de 7,3 et 7,1 mgO₂ l⁻¹ dans les bassins 1 et 2 et de 3,4 et 3,3 mgO₂ l⁻¹ dans les bassins 3 et 4, au cours de la seconde phase.

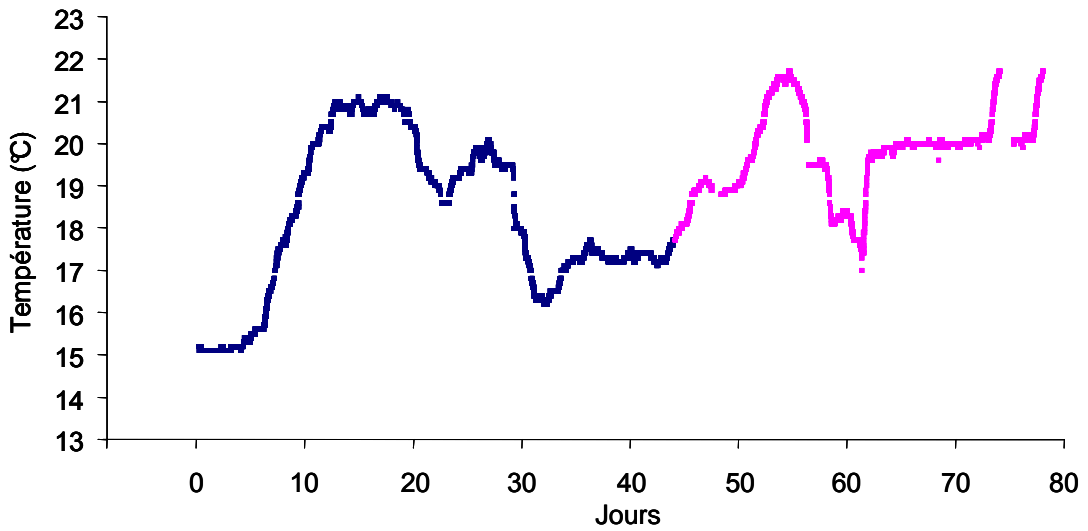


Figure 16. Suivi de la température (°C) au cours de l'expérience : première phase en bleu (t_0 à t_{44}) et seconde phase en rose (t_{44} à t_{77}).

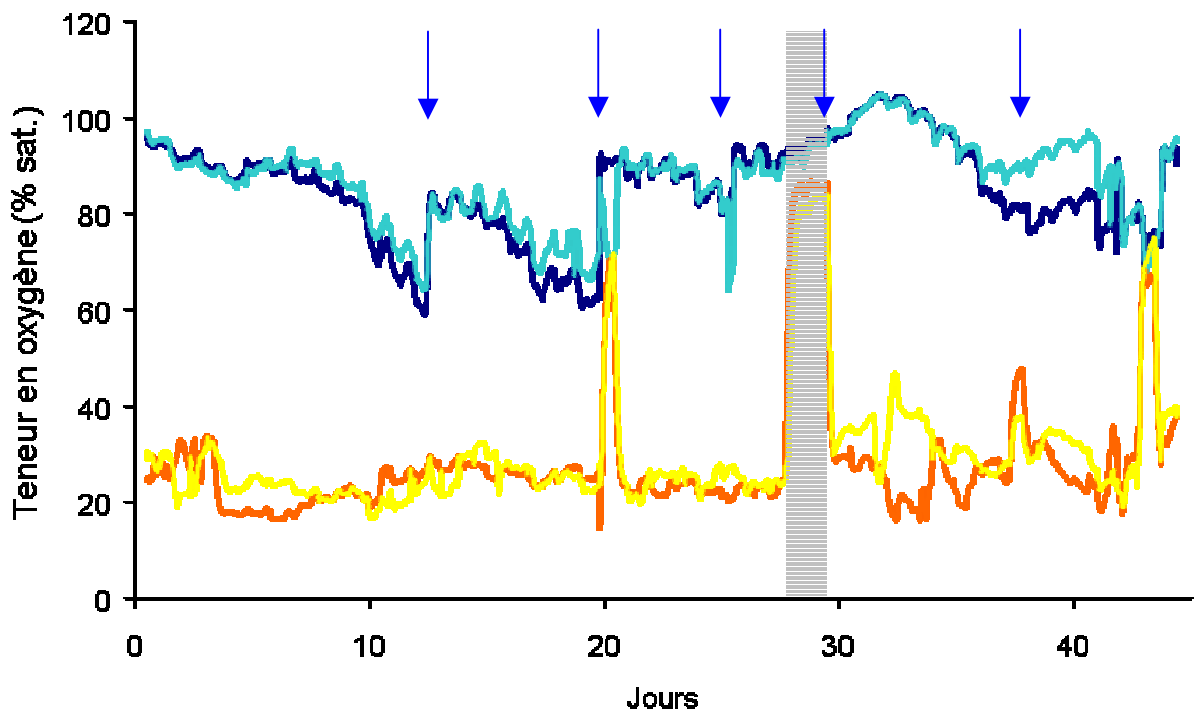


Figure 17. Suivi de la teneur en oxygène de l'eau (% sat.) dans les bassin 1 (■), 2 (■), 3 (▲) et 4 (▲) au cours de la première phase de l'expérience (100 vs 30 %, t_0 à t_{44}). Les flèches bleues indiquent le nettoyage de la sonde et la calibration. Le rectangle gris indique la période d'échantillonnage intermédiaire durant laquelle l'alimentation d'azote était stoppée dans les bassins hypoxiques.

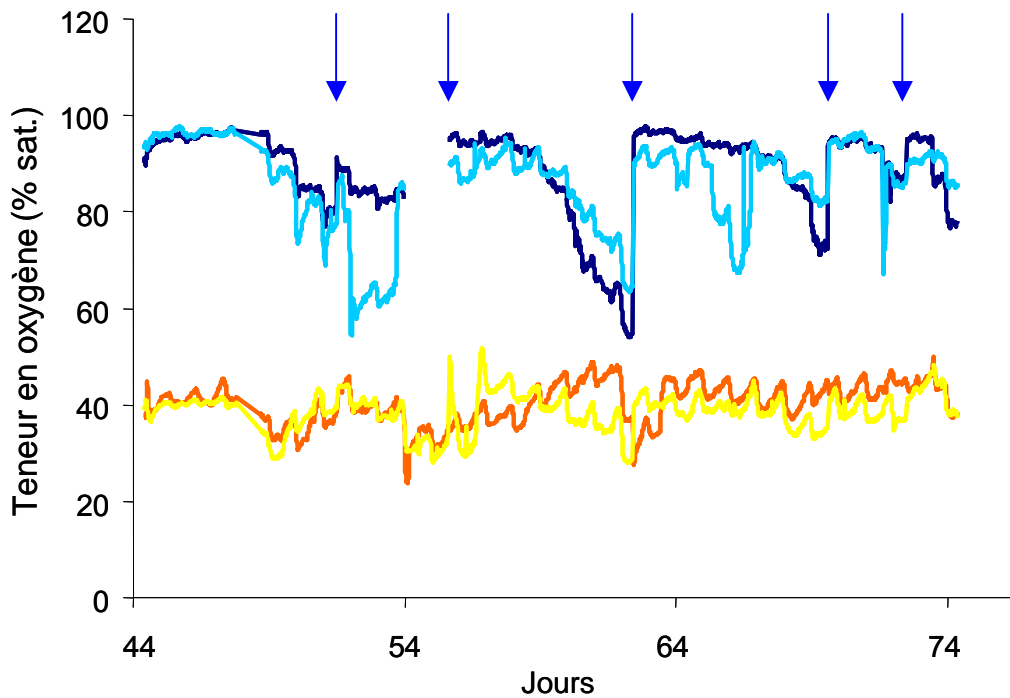


Figure 18. Suivi de la concentration en oxygène de l'eau ($\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$) dans les bassins 1 (■), 2 (■), 3 (■) et 4 (■) au cours de la seconde phase de l'expérience (100 vs 40 %). Les flèches bleues indiquent le nettoyage de la sonde et la calibration.

Il n'y avait pas de différence significative de la masse ($F_{[3]} = 0,18$, $p = 0,91$), de la longueur ($F_{[3]} = 0,30$, $p = 0,83$) et de l'indice de condition ($F_{[3]} = 0,53$, $p = 0,66$) des soles entre les 4 bassins expérimentaux au début de l'expérience.

La masse, la longueur et l'indice de condition des soles ont augmenté au cours des 77 jours de l'expérience. Les conditions expérimentales ont eu un effet significatif sur le taux de croissance en masse (Fig. 19 ; $F_{[3]} = 6,46$, $p = 0,0075$) ainsi que sur le taux de croissance en longueur (Fig. 20 ; $F_{[3]} = 7,48$, $p = 0,0044$). Toutefois, elles n'ont pas eu d'effet sur le facteur de condition (Fig. 21 ; $F_{[3]} = 2,96$, $p = 0,0752$). Les résultats des ANCOVA comparant deux à deux les taux de croissance en fonction des traitements sont présentés dans le Tableau 1 pour la masse et le Tableau 2 pour la longueur. Il n'y a pas de différence de taux de croissance (en

masse ou en longueur) entre la première et la deuxième partie de l'expérience, en normoxie. Cependant, le taux de croissance est significativement plus important en normoxie qu'en hypoxie sévère à 2,5 mgO₂ l⁻¹ alors qu'il n'y a pas de différence entre les traitements normoxique et hypoxique modéré à 3,4 mgO₂ l⁻¹. Le taux de croissance des soles en hypoxie sévère (2,5 mgO₂ l⁻¹) est significativement inférieur à celui des soles en hypoxie modérée (3,4 mgO₂ l⁻¹).

Tableau 1. Résultats des ANCOVA comparant deux à deux les taux de croissance en masse en fonction des traitements. Apparaissent en rouge, les traitements significativement différents entre eux.

	Hypoxie 30	Hypoxie 40	Normoxie 1
Hypoxie 40	$F_{[1]} = 15,56, p < 0,0076$	-	-
Normoxie 1	$F_{[1]} = 14,44, p < 0,0052$	$F_{[1]} = 0,53, p < 0,4957$	-
Normoxie 2	$F_{[1]} = 14,39, p < 0,0090$	$F_{[1]} = 0,66, p < 0,4611$	$F_{[1]} = 2,66, p < 0,1543$

Tableau 2. Résultats des ANCOVA comparant deux à deux les taux de croissance en longueur en fonction des traitements. Apparaissent en rouge, les traitements significativement différents entre eux.

	Hypoxie 30	Hypoxie 40	Normoxie 1
Hypoxie 40	$F_{[1]} = 13,00, p < 0,0113$	-	-
Normoxie 1	$F_{[1]} = 18,11, p < 0,0028$	$F_{[1]} = 0,95, p < 0,3677$	-
Normoxie 2	$F_{[1]} = 16,87, p < 0,0063$	$F_{[1]} = 0,21, p < 0,6716$	$F_{[1]} = 2,64, p < 0,1551$

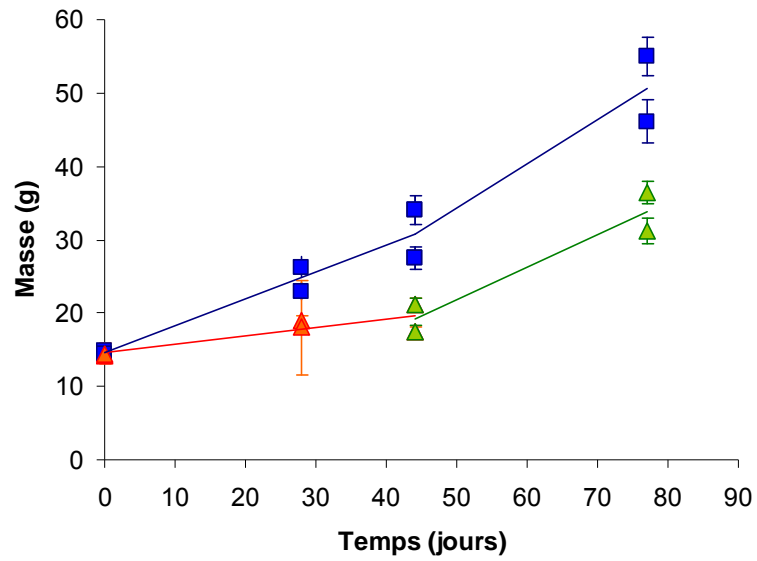


Figure 19. Taux de croissance en masse en normoxie entre le 1^{er} et le 44^{ème} jour (■ ; $M = 0,37 J + 14,55$; $r^2 = 0,91$) puis entre le 44^{ème} et le 77^{ème} jour ($M = 0,60 J + 4,37$; $r^2 = 0,87$), en hypoxie à $2,5 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ (▲ ; $M = 0,11 J + 14,62$; $r^2 = 0,75$) puis à $3,4 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ (▲ ; $M = 0,44 J - 0,24$; $r^2 = 0,91$)

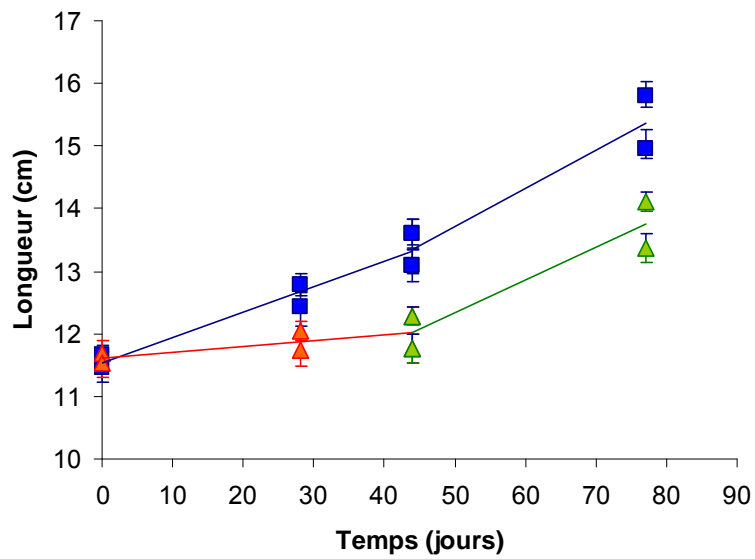


Figure 20. Taux de croissance en longueur en normoxie entre le 1^{er} et le 44^{ème} jour (■ ; $L = 0,04 J + 11,54$; $r^2 = 0,94$) puis entre le 44^{ème} et le 77^{ème} jour ($L = 0,06 J + 10,66$; $r^2 = 0,90$), en hypoxie à $2,5 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ (▲ ; $L = 0,01 J + 11,61$; $r^2 = 0,48$) puis à $3,4 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ (▲ ; $L = 0,05 J + 9,73$; $r^2 = 0,88$).

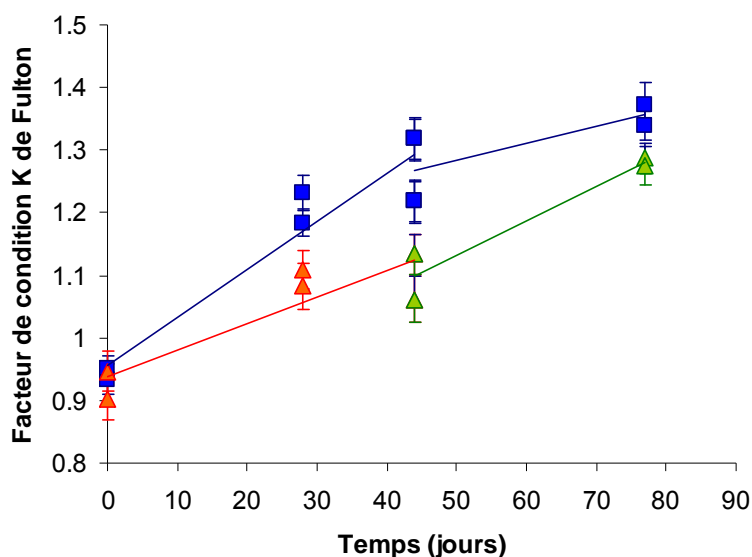


Figure 21. Evolution de l'indice de condition de Fulton (K) en normoxie entre le 1^{er} et le 44^{ème} jour (\blacksquare ; $K = 0,0076 J + 0,9567$; $r^2 = 0,91$) puis entre le 44^{ème} et le 77^{ème} jour ($K = 0,0027 J + 1,1498$; $r^2 = 0,59$), en hypoxie à 2,5 mgO₂ l⁻¹ (\blacktriangle ; $K = 0,0042 J + 0,9386$; $r^2 = 0,80$) puis à 3,4 mgO₂ l⁻¹ (\blacktriangle ; $K = 0,0056 J - 0,8533$; $r^2 = 0,93$).

3. Effet de l'oxygénation de l'eau sur la SDA

3.1. Matériels et méthodes

3.1.1. Poissons expérimentaux

Les soles ($27,52 \pm 1,14$ g – $14,39 \pm 0,19$ cm LS) ont été capturées au chalut à perche dans l'anse de l'Aiguillon (France) en décembre 2004. A leur arrivée au laboratoire, les poissons ont été transférés dans des bassins de 400 l alimentés en eau de mer circulant en circuit fermé (taux de renouvellement : ~ 30 % par semaine) et filtrée sur biofiltre. La

photopériode et la température ont suivi les cycles naturels. Trois fois par semaine, les poissons ont été nourris à satiété avec des granulés (IDL Solea Go 3 mm, INVE Aquaculture Nutrition, Calonne-sur-la-Lys, France). Trois semaines avant les expériences, les poissons ont été transférés dans une salle thermorégulée à 15°C. Dans cette salle, la photopériode et le rythme de nourrissage ont été conservés.

3.1.2. Montage expérimental

Le montage expérimental (Fig. 22) était placé dans la salle thermorégulée (15 °C). Il était composé de deux respiromètres (R1 et R2) montés en parallèle et immergés dans un bassin (T) contenant de l'eau de mer thermostatée et renouvelée régulièrement. Les respiromètres (1,16 l) étaient alimentés par une pompe (P3) via une colonne d'équilibration (C) dont le rôle était de réguler l'oxygénation de l'eau via un échange de gaz (air ou N₂) à contre courant. La pompe alimentant la colonne en eau de mer à partir du bassin était branchée sur un chronomètre. Une dérivation sur le respiromètre alimentait une chambre contenant une électrode (Op – Cellox 325 ou FTC-PSt3) reliée à un oxymètre (Oxi 340/Set, WTW, Weiheim, Allemagne ou Fibox 3, PreSens, Regensburg, Allemagne). La concentration en oxygène de l'eau du respiromètre a été enregistrée en continu grâce à un système d'acquisition (Logger Pro 3, Vernier, Beaverton, OR, USA + ordinateur - Cp).

3.1.3. Protocole

Préalablement à chaque cycle de mesure, deux soles ayant préalablement subi une période de jeun de 3 jours étaient placées dans les respiromètres. Les mesures de taux métabolique (consommation d'oxygène) ont commencé aussitôt les respiromètres

hermétiquement fermés. Ces mesures sont répétées sur une durée totale de 5 jours. Au cours de cette période, 2 types de conditions ont été examinées soit :

- A jeun + cycle d'activité spontanée,
- Période post-prandiale.

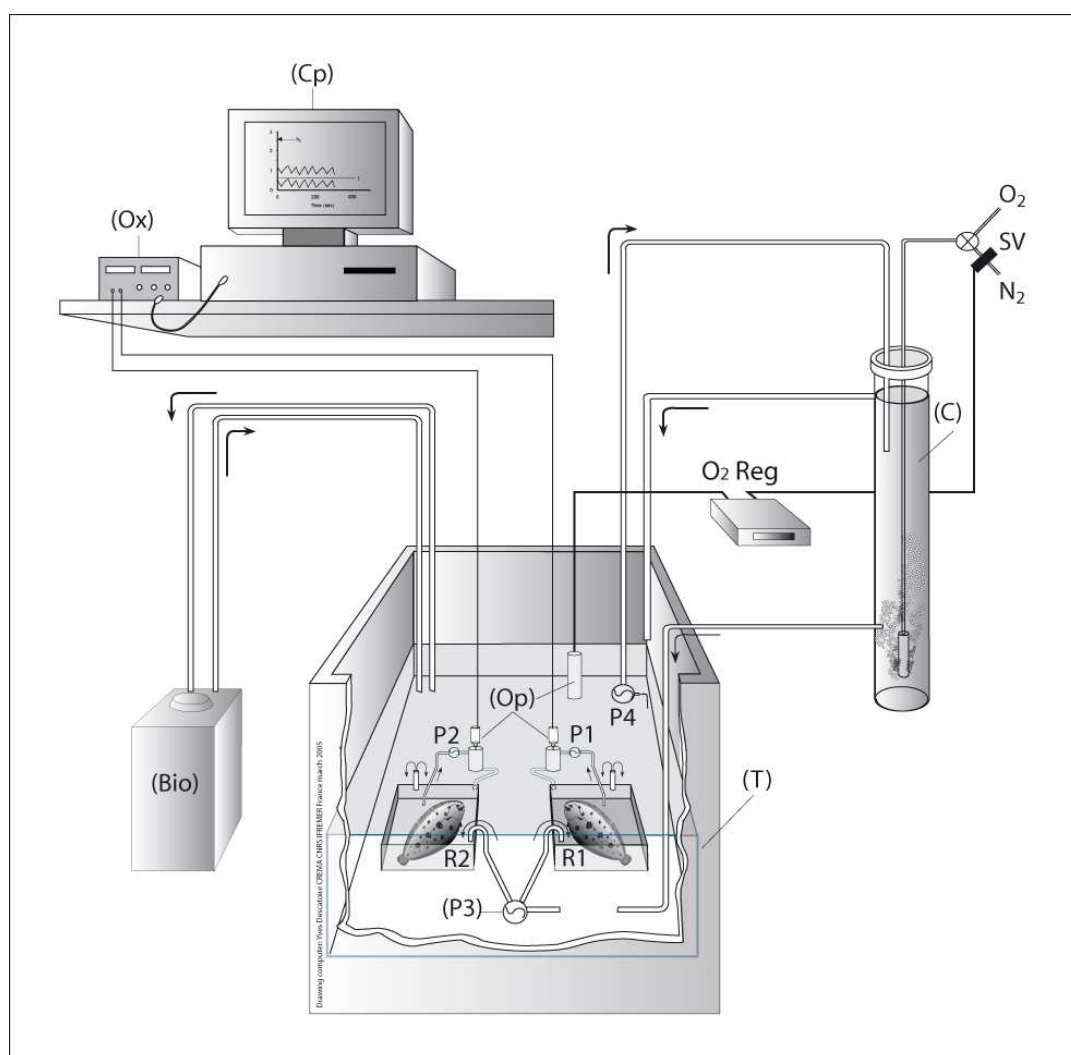


Figure 22. Montage expérimental de l'expérience de respirométrie sur la mesure du coût énergétique de la digestion. *Ox* : oxymètre, *Cp* : système d'acquisition de données, *SV* : vanne, *C* : colonne de dégazage, *O_{2 reg}* : régulateur de la teneur en oxygène de l'eau dans le bassin, *Op* : sonde à oxygène, *P1, 2, 3 et 4* : pompes, *R 1 et 2* : respiromètres, *T* : bassin, *Bio* : biofiltre. Dessiné par Yves Descatoire, CRELA.

Pour mesurer la consommation d'oxygène, l'alimentation en eau des respiromètres était périodiquement (15 minutes) arrêtée et la baisse de la concentration en oxygène dissous dans la chambre enregistrée durant 10 minutes. A la fin de la période de mesure, l'eau des respiromètres était renouvelée durant 5 minutes avant que le cycle de mesure suivant ne débute.

Suite à la première phase de mesure (J1 à J3) les soles étaient sorties des respiromètres, anesthésiées (2-phénoxyéthanol, 0,5 ml l⁻¹) puis leur estomac rempli d'une quantité connue d'aliment (mélange de granulés (IDL Solea Go 3 mm, INVE Aquaculture Nutrition, Calonne-sur-la-Lys, France) et d'eau Millipore à masse égale). Le gavage était réalisé à l'aide d'une seringue et d'un tube de polyéthylène introduit dans l'oesophage. Le mélange était réalisé la veille de chaque gavage et conservé à 4 °C durant la nuit.

Une fois gavée, les soles étaient replacées dans les respiromètres et j'ai pris soin de vérifier qu'il n'y avait pas de régurgitation au cours de la phase de réveil. Trois niveaux de gavage ont été testés (0,5 %, 1,5 % et 2,5 % de la masse corporelle des soles) en normoxie, afin de tester l'effet de la taille du repas sur le métabolisme de la digestion. La taille maximale du repas (2,5 % de la masse de la sole) ainsi que la durée de la digestion ont été évalués grâce à des tests préliminaires, notamment une mesure du volume maximal de l'estomac. Ensuite, afin de mesurer l'effet de l'oxygénation de l'eau, les mesures de métabolisme ont été répétées en hypoxie modérée (40 %, n = 10) puis en hypoxie sévère (30 % de saturation, n = 10) sur deux lots de soles supplémentaires, pour une seule taille de repas (1,5 %). Au cours de l'expérience, des microorganismes se développent à la surface des respiromètres. C'est pourquoi, à la fin de chaque expérience, les soles ont été retirées des respiromètres et la consommation d'oxygène des microorganismes a été mesurée durant plusieurs heures. Les valeurs obtenues ont été prises en compte pour le calcul du taux métabolique des soles.

3.1.4. Analyses

La consommation d'oxygène du poisson ($\dot{M}O_2$; $\text{mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) a été calculée à partir de la pente de la relation entre la diminution de la concentration en oxygène dans le respiromètre et le temps. Elle a été calculée en utilisant la formule suivante (Lefrançois et Claireaux, 2003):

$$\dot{M}O_{2\text{ mes}} = \frac{\Delta C_w O_2}{\Delta t} \times VOL_{resp} \times M^{-1} \quad \text{Eq. 6}$$

où $\Delta C_w O_2$ correspond à la variation de la concentration en oxygène dans l'eau ($\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$), Δt la période de mesure (h), VOL_{resp} le volume d'eau dans le respiromètre (en litre, correspond au volume du respiromètre moins le volume du poisson) et M la masse du poisson (kg).

Il existe une relation allométrique entre la taille de l'animal et sa consommation d'oxygène par unité de masse. Par conséquent, afin de pouvoir comparer le métabolisme de poissons de masse différente, la consommation d'oxygène des soles a été standardisée pour une masse moyenne de 25 g grâce à la formule suivante :

$$\dot{M}O_{2\text{ corr}} = \dot{M}O_{2\text{ mes}} \times \left(\frac{M_{mes}}{M_{corr}} \right)^{1-A} \quad \text{Eq. 7}$$

où $\dot{M}O_{2\text{ corr}}$ est la consommation d'oxygène du poisson ($\text{mgO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) corrigée pour une masse M_{corr} (25 g), $\dot{M}O_{2\text{ mes}}$ la consommation d'oxygène du poisson de masse M_{mes} (kg). A est le coefficient d'allométrie décrivant la relation entre le taux métabolique et la masse chez la sole (0.8 ; (Van den Thillart *et al.*, 1994).

Pour calculer SMR, j'ai tout d'abord utilisé la méthode proposée par Steffensen *et al.* (1994). Toutefois, cette méthode s'est révélée inefficace. Cette méthode consiste à produire un histogramme de fréquence des valeurs de $\dot{M}O_2$ enregistrées au cours d'une expérience.

Chez la morue, les fréquences sont distribuées selon deux courbes de distribution normales (Fig.23). La première présente un pic, étroit et élevé, correspondant aux valeurs les plus faibles. Selon Steffensen *et al.* (1994) le mode de cette première courbe de distribution de fréquence est une bonne approximation du taux métabolique de base (SMR). La seconde courbe présente un pic plus large, moins élevé et décalé vers la gauche. Il rassemble les taux métaboliques correspondant à l'activité spontanée des animaux (RMR). Chez la sole, il n'a pas été possible de distinguer le pic correspondant au métabolisme basal de celui correspondant à l'activité moyenne (Fig. 23). En effet, l'allure de la distribution de fréquences dépend des variations du niveau d'activité du poisson. Or, la sole possède un cycle d'activité spontané marqué avec un niveau d'activité qui varie fortement entre le jour et la nuit.

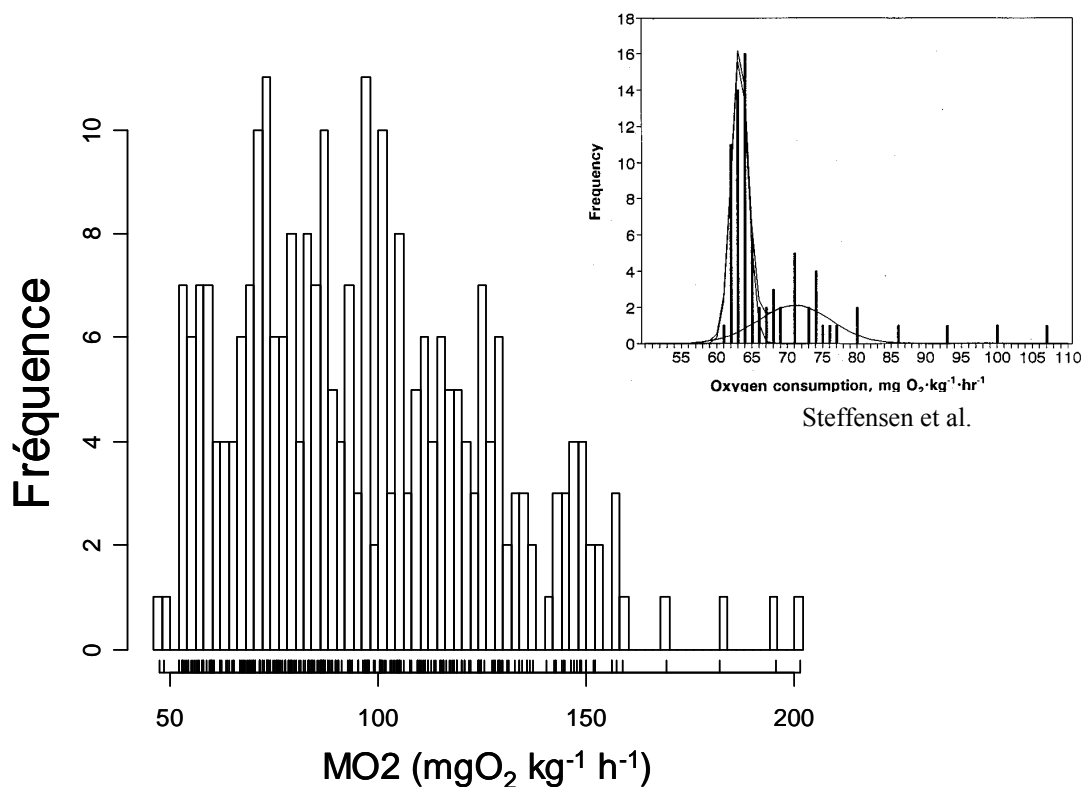


Figure 23. Exemple d'un histogramme de fréquences des valeurs de métabolisme (MO_2) enregistrées au cours de la digestion d'un repas chez la sole. En encart, un exemple de d'histogramme de fréquence des MO_2 enregistrées chez la morue (Steffensen *et al.*, 1994).

Pour contourner cette difficulté nous avons donc mis au point une méthode d'analyse basée sur la méthode des quantiles (Chabot *et al.*, *en prép.*). Les quantiles sont des points de la fonction de distribution cumulative d'une variable aléatoire (Sokal et Rohlf, 1995), par exemple la $\dot{M}O_2$ (Fig. 24). Le quantile Q est compris entre 0 et 1. Il indique la valeur de $\dot{M}O_2$ à partir de laquelle la fréquence cumulée atteint Q, par exemple pour la médiane : 50 % des valeurs de $\dot{M}O_2 < Q_{0,5} < 50$ % des valeurs de $\dot{M}O_2$. De façon théorique, SMR correspond à la valeur de $\dot{M}O_2$ mesurée, la plus basse, c'est-à-dire pour $Q = 0$. Toutefois, en tenant compte de l'erreur expérimentale, nous avons déterminé que SMR correspondait au quantile 0,1, à savoir que 10 % des valeurs de $\dot{M}O_2$ calculées sont inférieures à SMR et 90 % sont supérieures. SMR a été déterminé à partir de la distribution de fréquence cumulée de la totalité des $\dot{M}O_2$ enregistrées au cours d'une expérience.

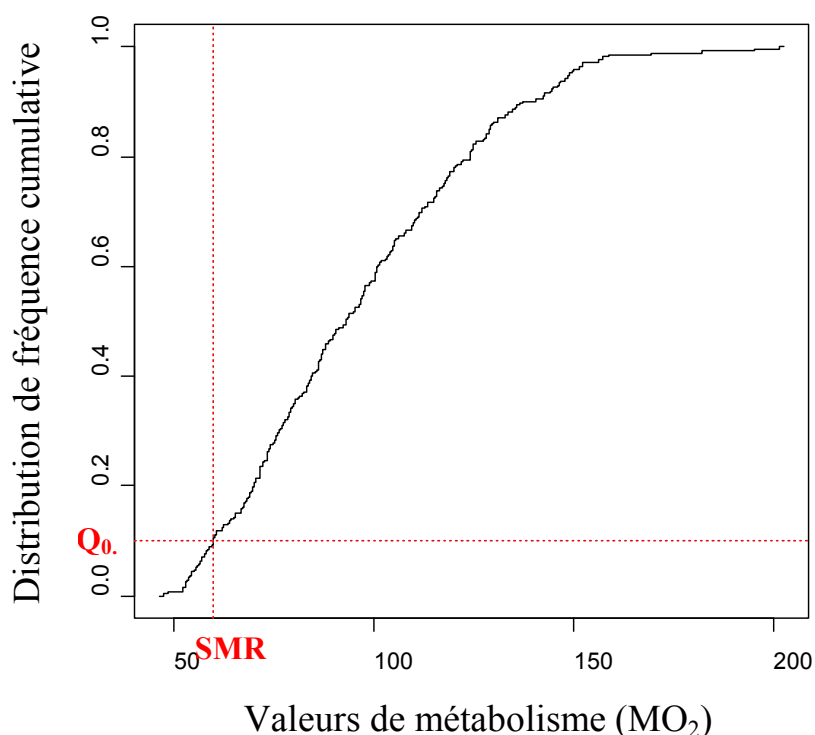


Figure 24. Exemple d'une distribution de fréquences cumulées des valeurs de métabolisme (MO_2) enregistrées au cours de la digestion d'un repas.

J'ai ensuite procédé en deux étapes pour déterminer la dépense énergétique due à la digestion (SDA – *Specific Dynamic Action* ; Fig. 25). Tout d'abord, j'ai déterminé les valeurs les plus basses du métabolisme de routine (taux métabolique minimal, $M_{in}MR$) en fonction du temps au moyen d'une régression quantile non-linéaire (Koenker et Bassett, 1978). Dans le cas d'une régression quantile non linéaire, le quantile est noté τ . Pour cette analyse, τ a été estimé à 0,15, c'est-à-dire que 15 % des valeurs sont inférieures à la courbe de régression quantile non-linéaire. $M_{in}MR$ correspond à la dépense énergétique minimale nécessaire à la digestion ajoutée au métabolisme basal. En soustrayant SMR de $M_{in}MR$, j'ai ensuite calculé la dépense énergétique due à la digestion, la SDA ($mgO_2\ kg^{-1}$), c'est-à-dire la quantité totale d'oxygène nécessaire à la digestion du repas. Graphiquement, elle correspond à l'aire comprise entre la courbe du modèle décrivant $M_{in}MR$ et SMR, au cours d'une période de temps correspondant à la durée de la digestion. Cette période débute au moment du gavage (t_0) où le taux métabolique minimal et SMR sont identiques et se termine lorsque $M_{in}MR$ est de nouveau équivalent au SMR. De même que pour le taux métabolique minimal, le taux métabolique maximal ($M_{ax}MR$) a été modélisé grâce à une régression quantile non linéaire supplémentaire, en fixant le paramètre τ à 0,85. Au cours de la digestion, l'amplitude maximale atteinte par le métabolisme minimal (pic SDA) et le métabolisme maximal (pic $M_{ax}MR$) ont également été calculés.

Le calcul de SMR grâce aux quantiles et les régressions non-linéaires ont été réalisés en utilisant le logiciel R[©] (Vienne, Autriche, 2007). Les valeurs obtenues ont été moyennées pour chaque condition expérimentale (taille du repas et niveau d'oxygénation).

Le coût énergétique de la digestion de chaque repas (SDA) a été exprimé en pourcentage du contenu énergétique du repas :

$$R = \frac{SDA * M_p * B * 10^{-1}}{M_R * E} \quad \text{Eq. 8}$$

où SDA est la quantité d' O_2 nécessaire à la digestion du repas rapportée à un poisson d'1 kg ($mgO_2 kg^{-1}$), M_P est la masse du poisson, B est l'équivalent oxycalorifique, il équivaut à $3,36 cal mgO_2^{-1}$ (Beamish, 1978), M_R est la masse du repas et E , la valeur énergétique de l'aliment ($4423 kcal kg^{-1}$). Les valeurs obtenues ont été moyennées pour chaque traitement.

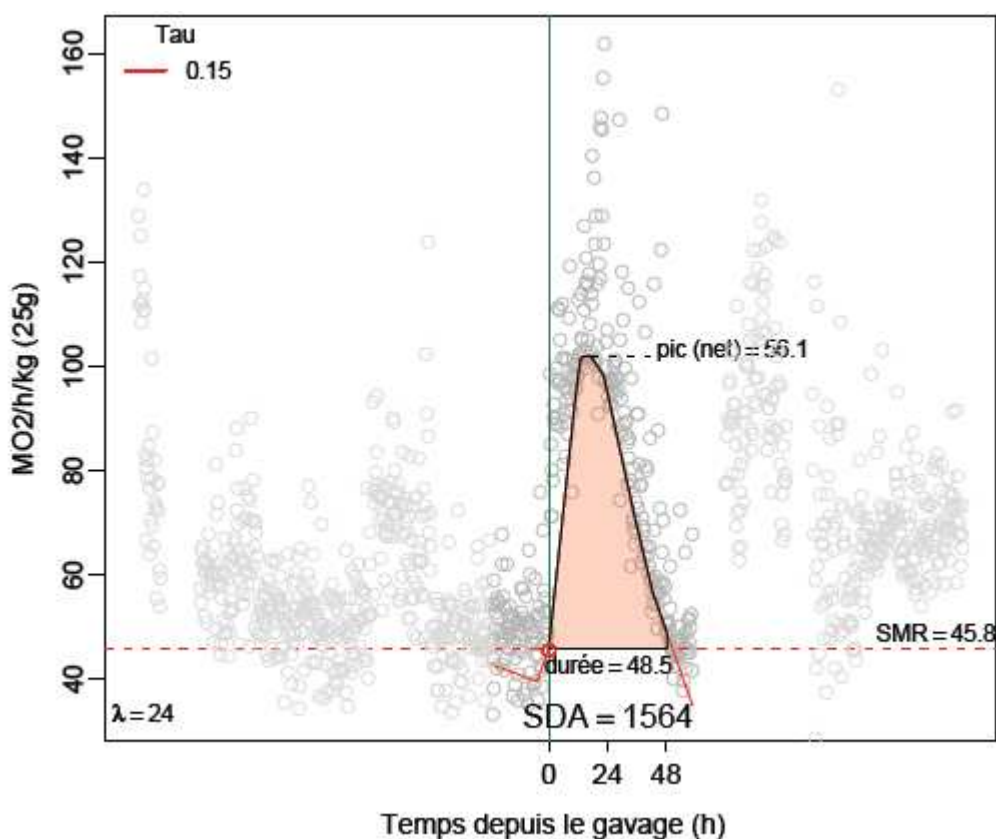


Figure 25. Exemple d'une représentation graphique du SMR (----) calculé grâce au quantile 0,1. La courbe rouge représente le modèle de régression quantile non-linéaire. L'aire délimitée par le trait noir correspond à la SDA, la dépense énergétique due à la digestion. Le *pic(net)* ou *pic SDA* correspond à la valeur maximale du métabolisme minimal atteinte au cours de la digestion. La durée de la digestion est comprise entre le moment du gavage et le moment où le métabolisme minimal atteint de nouveau SMR.

3.1.5. Statistiques

L'effet du taux de gavage sur la SDA, la durée, l'amplitude de la digestion et le ratio R obtenus en normoxie, a été analysé au moyen d'une ANOVA à un facteur (taille du repas : 0,5, 1,5 et 2,5 % de la masse des soles). L'effet du niveau d'oxygénation sur le SMR, la SDA, le ratio R , l'amplitude (pic SDA) et la durée de la digestion d'un repas de 1,5 % de la masse des soles, a été analysé au moyen d'une ANOVA à un facteur (niveaux d'oxygénation : 30, 40 et 100 % de saturation). Le test de Tukey HSD a été utilisé comme test *a posteriori*.

3.2. Résultats

3.2.1. Effet de la taille du repas sur la dynamique de la digestion en normoxie

La SDA (*Specific Dynamic Action*, Fig. 26) est proportionnelle à la taille du repas :

$$SDA = 43119,55 G; (r^2 = 0,92 ; p < 0,0001) \quad \text{Eq. 9}$$

où SDA est la quantité d'oxygène nécessaire à la digestion du repas et G le taux de gavage en pourcentage de la masse corporelle de la sole. Les SDA correspondant respectivement à la digestion d'un repas de 0,5, 1,5 et 2,5 % de la masse de la sole sont de 312, 714 et 1011 mgO₂ kg⁻¹. Ces valeurs sont significativement différentes les unes des autres ($F_{[2]} = 7,6$, $p < 0,01$). Le pic de SDA (mg O₂ kg⁻¹ h⁻¹) atteint au cours de la digestion du repas de 0,5 % est significativement différent de ceux atteints au cours des repas de 1,5 % et 2,5 % de la masse des soles ($F_{[2]} = 27,47$, $p = 0,027$). La durée de la digestion augmente avec la taille du repas. La durée de digestion d'un repas de 2,5 % (49 h) est significativement plus élevée que celle d'un repas de 1,5 % (38 h) qui est significativement plus élevée que celle d'un repas de 0,5 % (29 h ; $F_{[2]} = 27,47$, $p < 0,0001$). Le pourcentage de la valeur énergétique du repas utilisé pour

sa digestion tend à diminuer avec la taille du repas. Cependant, cette diminution n'est pas significative ($F_{[2]} = 3,21$, $p = 0,0591$).

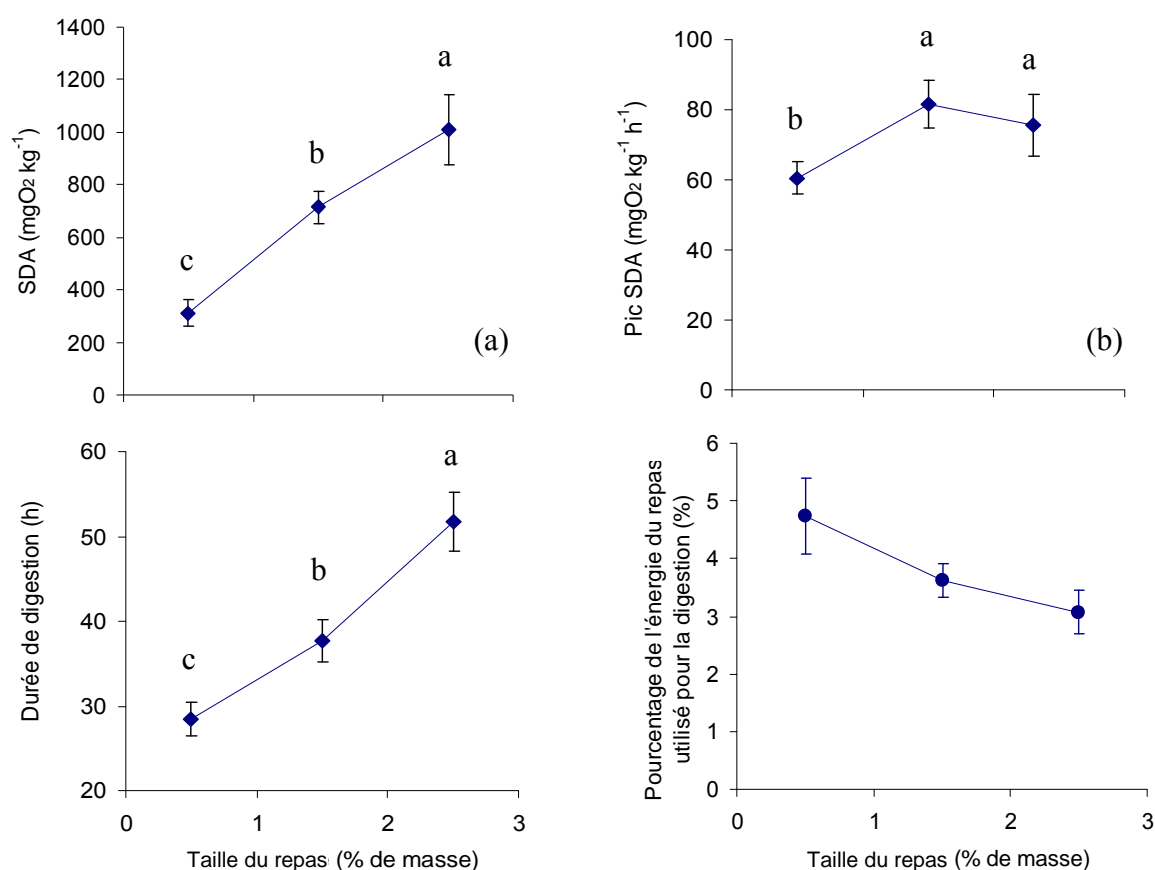


Figure 26. Effet de la taille du repas (0,5, 1,5 et 2,5% de masse de la sole) sur (a) la SDA ($\text{mgO}_2 \text{ kg}^{-1}$), (b) le pic de SDA ($\text{mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), (c) la durée de la digestion (h) et (d) le pourcentage de l'énergie totale contenue dans le repas utilisée pour sa propre digestion en normoxie.

3.2.2. Effet du niveau d'oxygénation de l'eau sur la dynamique de la digestion

Quel que soit le niveau d'oxygénation de l'eau, le SMR moyen des groupes de poissons formés pour cette expérience sont identiques entre les traitements ($F_{[2]} = 1.65$, $p = 0.21$). Cependant, il existe une différence significative entre la valeur de SDA en normoxie et celle à $2,5 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ ($F_{[2]} = 4,97$, $p < 0,015$). La valeur de SDA obtenue à $3,4 \text{ mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ est intermédiaire et n'est pas significativement différente des valeurs obtenues en normoxie ou en hypoxie sévère (Fig. 27).

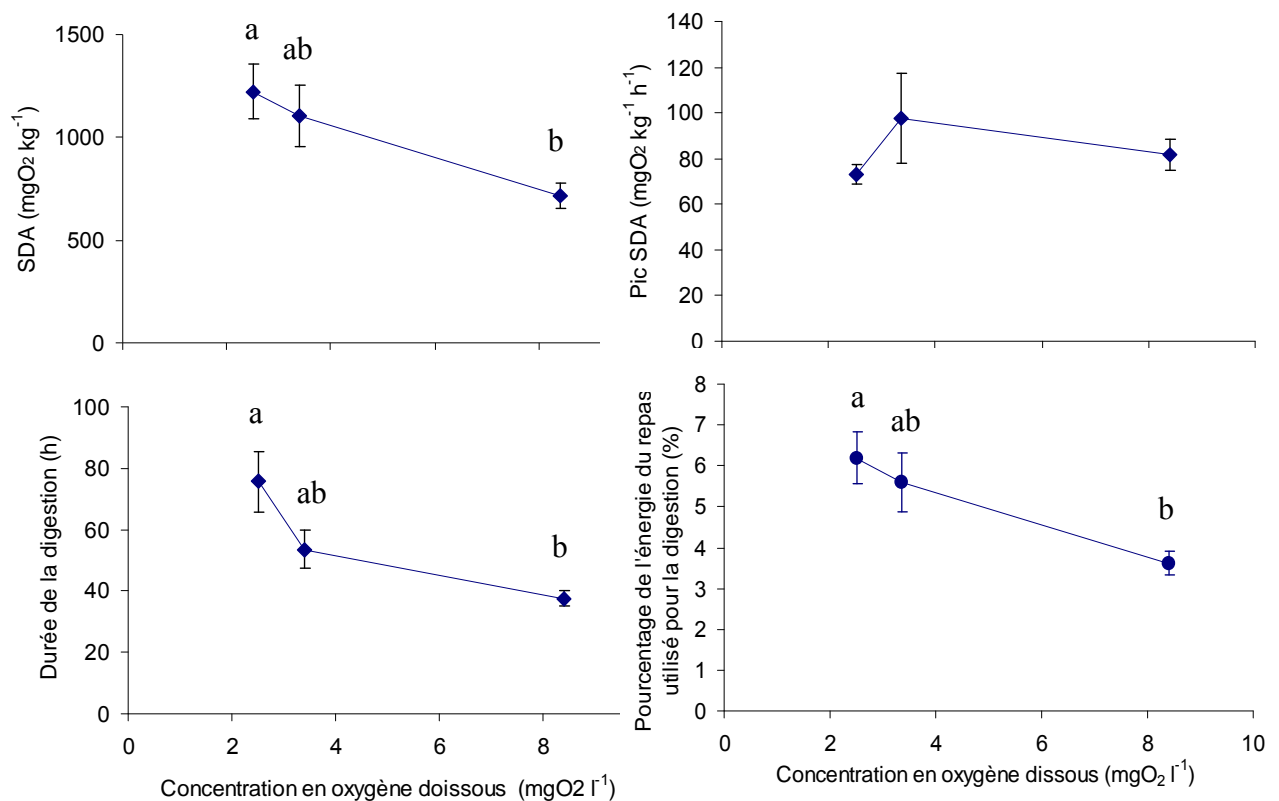


Figure 27. Evolution (a) de la SDA ($\text{mgO}_2 \text{ kg}^{-1}$), (b) du pic de SDA ($\text{mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$), et (c) de la durée de la digestion (h) en fonction de la concentration en oxygène dissous ($\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$) dans l'eau pour un repas de 1,5 % de la masse de la sole.

Le pic de SDA ($\text{mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$) est identique quel que soit le niveau d'oxygène ($F_{[2]} = 1,85$, $p = 0,18$). La durée de la digestion augmente avec la réduction de la concentration en oxygène de l'eau. La durée de digestion d'un repas de 1,5 % à 2,5 $\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ (75,6 h) est significativement plus élevée qu'en normoxie (37,7 h). Elle est intermédiaire à 3,4 $\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ (53,5 h) et non significativement différente des deux autres niveaux d'oxygénation ($F_{[2]} = 8,09$, $p < 0,0019$). Le pourcentage de la valeur énergétique du repas utilisé pour sa digestion diminue avec la concentration en oxygène ($F_{[2]} = 4,97$, $p = 0,0148$). Ce pourcentage est significativement plus élevé à 2,5 $\text{mgO}_2 \text{ l}^{-1}$ qu'en normoxie.

4. Discussion

Cette étude nous a permis de déterminer dans quelles mesures le niveau d'oxygénation de l'eau et la ration alimentaire influençaient la digestion et le taux de croissance des juvéniles de sole *Solea solea*. Le taux de croissance était similaire à 40 et 100 % de saturation alors qu'il était plus faible de 76 % en masse et de 80 % en longueur lorsque les soles sont élevées à 30 % de saturation. D'autre part, nous avons pu mettre en évidence que la dynamique de la digestion était différente à 30 % sat. par rapport aux deux autres teneurs en oxygène. A 30 % de sat., la SDA est plus élevée et la durée de la digestion plus longue.

4.1. Impact de l'oxygénation de l'eau sur la croissance

Les soles élevées en normoxie montrent un taux de croissance en longueur de 0,40 mm j^{-1} pour la première partie de l'expérience et 0,61 mm j^{-1} pour la seconde partie. Cette différence provient probablement de l'augmentation de la température au cours de la seconde phase (+ 1,5 °C). Ces taux de croissance sont légèrement inférieurs à ceux déjà publiés dans la littérature (Fig. 28). Deux modèles de croissance ont été proposés. Fonds (1979) :

$$\Delta L = 0,14T + 0,036 L - 1,2 \quad \text{Eq. 9}$$

où ΔL est le taux de croissance maximal prédit (cm mois^{-1}). Cette équation a été obtenue à partir de juvéniles sauvages de 1 à 15 cm, élevés durant plus d'un an à 10, 15 et 20 °C, et nourris à satiété de moules fraîches et occasionnellement d'annélides. Dans mes conditions expérimentales de température, ce modèle prévoit un taux de croissance des soles de 0,61 mm j^{-1} pour la première partie de l'expérience et 0,71 mm j^{-1} pour la seconde partie. Le second modèle de croissance est celui de Irvin (1973) *in* Howell (Howell, 1997) :

$$\Delta L = 2,7T - 21,9 \quad \text{Eq. 10}$$

où ΔL est le taux de croissance maximal prédit (cm mois^{-1}). Cette équation a été obtenue à partir de juvéniles provenant d'une éclosion et élevés à 5 températures constantes dans une gamme de 11-19 °C et nourris *ad libitum* de vers oligochètes. Dans mes conditions expérimentales, ce modèle prévoit un taux de croissance des soles de 0,92 mm j^{-1} pour la première partie de l'expérience et 1,05 mm j^{-1} pour la seconde. Ces deux modèles prévoient donc un taux de croissance en longueur supérieur à celui que j'ai pu observé, particulièrement celui de Irvin (1973). Cette différence peut avoir plusieurs origines. Tout d'abord, un effet saisonnier pourrait expliquer ces différences de croissance. En effet, les soles montrent un ralentissement de la croissance en hiver sur le terrain en raison de la photopériode (Laffargue, 2004). La saison pourrait donc expliquer le taux de croissance plus faible que nous observons. Toutefois, afin de limiter cet effet, j'ai choisi de réaliser mon étude au printemps, lorsque la durée du jour augmente et que le taux de croissance est maximal (Fonds, 1979). Ensuite, la valeur énergétique des granulés qui ont servis à nourrir les soles est de 18,5 kJ g^{-1} de masse sèche. Cette valeur est équivalente à celle des moules utilisées par Fonds (1979) soit 18,52 kJ g^{-1} (Dare et Edwards, 1975; Fonds *et al.*, 1992). D'autre part, avec moins de 2 kg de poissons par m^2 , la densité n'est pas un élément limitant de la croissance (Schram *et al.*, 2006). Toutefois, l'origine des poissons pourrait être en cause. En effet, dans mon étude ainsi que celle de Fonds, les poissons étaient des juvéniles sauvages alors que dans celle d'Irvin les juvéniles provenaient d'une éclosion. Le changement de régime alimentaire et les conditions de laboratoire ont pu perturber la croissance des juvéniles sauvages. Enfin, dans les études de

Fonds (1979) ou Irvin (1973), plusieurs lots de soles ont été élevés à plusieurs températures constantes. *A contrario*, dans mon étude, les soles ont été soumises à des variations de température importantes entre 15 à 22 °C, dont une augmentation de 7 °C en 9 jours et une chute de 3 °C en 2 jours. A ma connaissance, l'impact de telles variations de température sur la croissance n'a jamais été étudié. D'autre part, aucune expérience de croissance n'a été publiée sur *Solea solea* en hypoxie qui nous permettrait de comparer nos données.

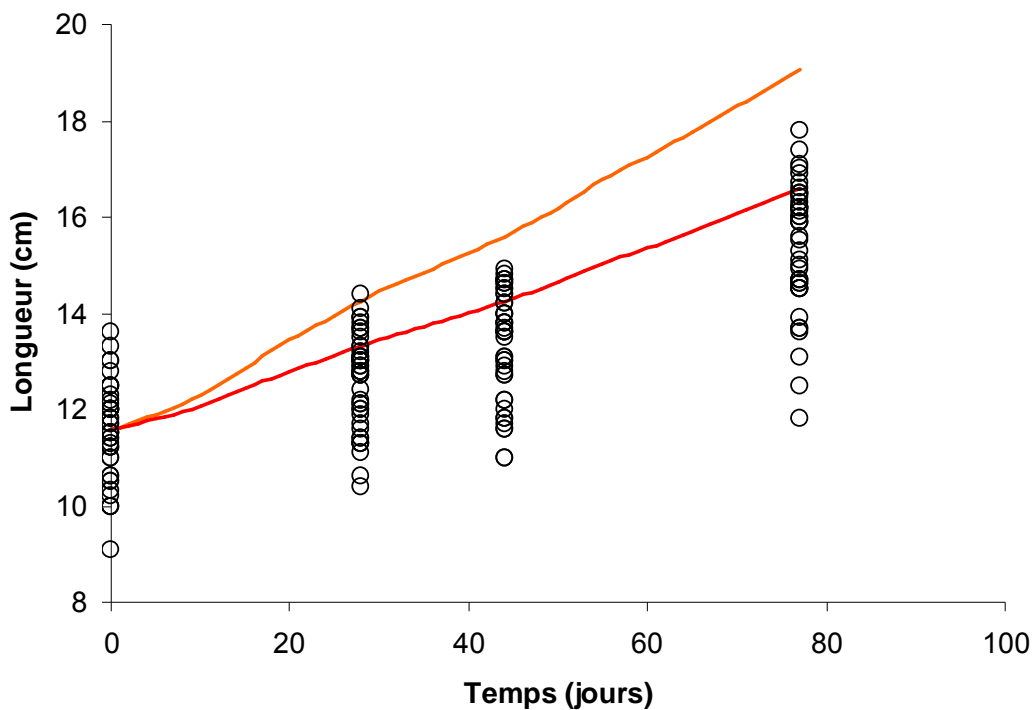


Figure 28. Taux de croissance maximal mesuré au cours de notre expérience (O), taux de croissance prédit par le modèle de Fonds (1979) (■), taux de croissance prédit par le modèle de Irvin (1973) in : Howell (1997)(■).

En hypoxie modérée (40 % de sat.), le taux de croissance est équivalent à celui des soles en normoxie. Cependant, en hypoxie sévère (30 % de sat.), le taux de croissance en masse des soles a été divisé par 3,4 par rapport à la normoxie. Le taux de croissance des soles

a donc diminué à partir d'une teneur en oxygène comprise entre 30 et 40 % de saturation. Cette gamme montre qu'en termes de croissance, la sole est plus tolérante à l'hypoxie que certains poissons plats. Le taux de croissance du cardeau d'été (*Paralichthys dentatus* ; 20 °C) commence à diminuer entre 70 et 50 % de saturation alors que celui de la limande plie rouge (*Pseudopleuronectes americanus* ; 20 °C) (Stierhoff *et al.*, 2006) ou du turbot (*Psetta maxima* ; 17 °C) (Pichavant *et al.*, 2000) diminue significativement dès 70 % de saturation.

Dans la présente étude, le taux de croissance en longueur est divisé par 4,2 en hypoxie sévère par rapport à la normoxie. Le ralentissement du taux de croissance en longueur en hypoxie sévère est donc plus important que celui de la croissance en masse. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées à partir de cette observation. Tout d'abord, la croissance en masse mobiliserait moins d'énergie que la croissance en longueur. Elle serait donc privilégiée lors d'une restriction de la disponibilité en oxygène. Toutefois, à ma connaissance, ces deux hypothèses n'ont fait l'objet d'aucune étude qui permettrait de les valider. De plus, privilégier la croissance en masse plutôt qu'en longueur pourrait résulter d'une stratégie adaptative. Chez cette espèce, la fitness pourrait dépendre d'un rapport élevé de la masse sur la longueur, c'est-à-dire un facteur de condition élevé. La survie est une des composantes de la fitness, et des études ont analysé les chances de survie de poissons en fonction de la taille (Sogard, 1997). Il a été montré qu'avec la taille, l'animal résiste mieux aux périodes de jeûne forcé, sa vulnérabilité face aux prédateurs est moindre et il possède une meilleure tolérance vis-à-vis des milieux extrêmes en général. Or, dans ces études, les avantages dus à la taille et à la masse n'étaient pas différenciés. Il est donc possible que la masse joue un rôle prépondérant par rapport à la taille dans ces observations. L'étude de la survie d'individus de taille égale mais de masses variées permettrait de statuer. Finalement, on peut supposer que le processus de croissance en longueur nécessite une phase préliminaire de croissance en masse. Celle-ci correspondrait à la mise en réserve d'énergie utilisée par la suite pour la croissance en longueur. La limitation due à l'hypoxie modifierait l'allocation d'énergie dans l'organisme et modifierait l'équilibre entre croissance en masse et en longueur.

4.2. Dynamique de la digestion

4.2.1. Effet de la taille du repas

La quantité d'oxygène nécessaire à la digestion du repas (SDA) et la durée de la digestion augmentent de façon proportionnelle à la taille du repas. Cette observation vient confirmer ce qui a été observé chez d'autres espèces (Jobling et Davies, 1980; Machida, 1981; Chakraborty *et al.*, 1992; Karamushko, 1993; Andersen, 1998). En effet, la composition chimique du repas influence la digestion (Andersen, 1999), notamment la proportion de protéines contenue dans le repas (Jobling et Davies, 1980; Chakraborty *et al.*, 1992; McCue *et al.*, 2005).

Le pic de SDA, c'est-à-dire l'amplitude de la variation de métabolisme due à la digestion, augmente avec la taille du repas jusqu'à atteindre un plateau à partir de 1,5 % de la masse de la sole. Lefrançois et Claireaux (2003) ont établi un modèle qui décrit l'effet de la température et de l'oxygénation sur le registre métabolique de la sole. A partir de ce modèle, j'ai pu calculer que le registre métabolique d'une sole de 25 g était de $130 \text{ mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ en normoxie (Fig. 31). Or, comme mon étude le montre, l'amplitude maximale de la SDA (pour un repas de 1,5 % de la masse de la sole) est approximativement de $35 \text{ mgO}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$. Par conséquent, la proportion du registre métabolique aérobie mobilisée par la digestion ne dépasse pas 25 %. Ceci implique que l'animal réserve, quelle que soit la taille du repas qu'il ingère, 75 % de sa capacité métabolique afin de procéder à d'autres activités, en dehors de la digestion. Cette marge de manœuvre lui assure la possibilité de faire face à une demande énergétique impromptue dont peut dépendre sa survie (Preide, 1977; Priede, 1985). Dans la littérature, le pic de SDA a souvent été exprimé en fonction du niveau de métabolisme basal. Exprimé de cette manière, il représente dans cette étude 1,8 fois la valeur du SMR. Cette

valeur est dans la gamme des valeurs publiées précédemment (1,6 – 2,6 ; voir revue (Karamushko, 1993).

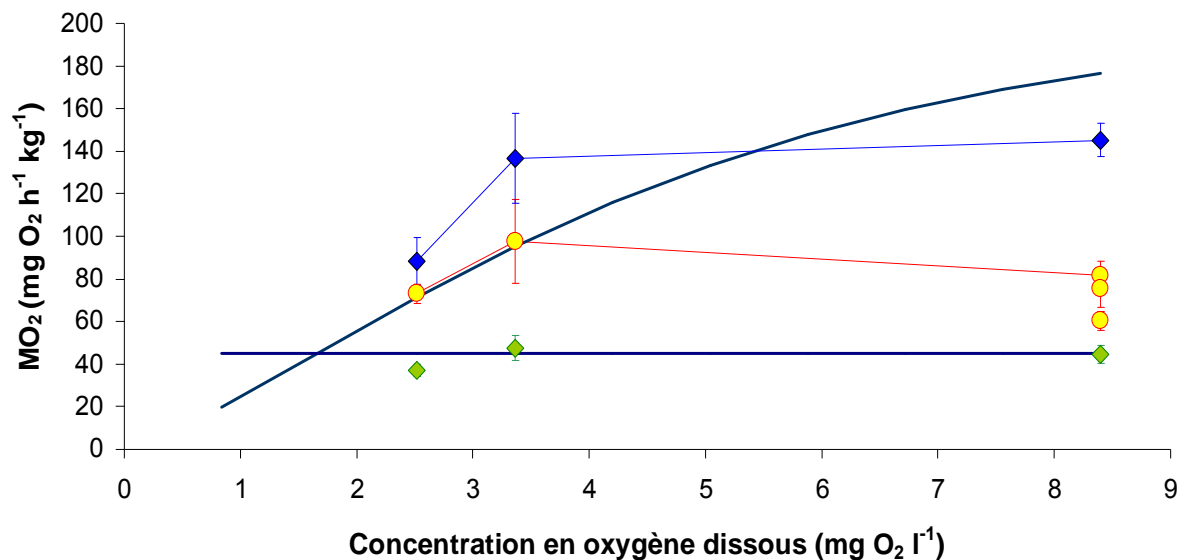


Figure 29. Valeurs de SMR (◇), MMR (◆) et du pic de SDA (●) comparées aux valeurs établies à partir du modèle théorique de Lefrançois et Claireaux (2003) décrivant le SMR et l'AMR (—) en fonction de la teneur en oxygène dissous du milieu.

Il a été montré chez le turbot (*Psetta maxima*) que la température influençait la part du registre métabolique aérobie allouée à la digestion (Mallekh et Lagardère, 2002). A 7 °C, la SDA occupe 29 % du registre métabolique et 52 % à 16 °C. Fonds (1992) a mesuré le métabolisme de la plie (*Pleuronectes platessa*) au cours de la digestion, et Preide et Holliday (1980) ont mesuré le métabolisme de la plie lors d'un test de nage. En standardisant les résultats de ces deux études pour un poisson de 100 g et en tenant compte de la température, j'ai pu déterminer que l'amplitude de la SDA représentait chez cette espèce 50 % du registre métabolique à 10 °C. A cette même température, chez la morue, un minimum de 54 % du registre métabolique est alloué à la digestion (Jordan et Steffensen, 2007). Comparativement, les registres métaboliques de la plie et du turbot sont deux fois supérieurs à celui de la sole, et

celui de la morue, près de 2,5 fois supérieur (10 °C). Ces observations laissent donc supposer que la marge de manœuvre métabolique dont dispose un organisme est fonction de son espèce, plus précisément de son registre métabolique. Cette différence pourrait provenir d'une différence de stratégie adaptative. En effet, selon l'espèce, c'est-à-dire son écologie, le nombre d'activités à réaliser simultanément et la demande énergétique de ces activités sont variables. Le coût de la nage en est un exemple. Un poisson plat tel que la sole passe peu de temps à nager dans la colonne d'eau alors que la morue y passe l'essentiel de son temps. La gestion de l'énergie allouée à cette fonction et à la digestion, est donc possiblement différente chez ces 2 espèces.

En normoxie, le coût de la digestion ne dépasse pas 5 % de la valeur énergétique du repas. Cette valeur tend à diminuer avec la taille du repas, mais cette baisse n'est pas significative. Les valeurs publiées jusqu'à présent sont un peu plus élevées. Pour des rations de 0,4 à 1,0 % de la masse de la carpe (*Cyprinus carpio* – 65-83 g), Chakraborty *et al.* (1992) trouvent un coefficient compris entre 9 et 16 % selon la teneur en protéines du repas. De même, les données rassemblées par Machida (1981) sont comprises entre 9 et 25 % selon l'espèce considérée et surtout la nature du repas (chair de poisson, granulés, nymphes d'insecte). En raison de cette influence de la composition chimique du repas sur le coût énergétique de la digestion, les comparaisons sont cependant à manier avec précaution. Toutefois, dans notre expérience, le coût de la digestion relativement peu élevé que l'on observe s'explique facilement. Les granulés dont nous nous sommes servis au cours de l'expérience ont été conçus pour l'aquaculture de soles. Dans cette optique, l'aliment a été produit afin d'améliorer les taux de croissance et de conversion des poissons. Le fournisseur a comparé la croissance de soles nourries avec des granulés adaptés aux soles à celle de soles nourries avec des granulés conçus pour les turbots. Ces données indiquent que les soles nourries avec IDL Solea ont un taux de croissance supérieur de 12 % alors que la consommation journalière est réduite de 12 % et le taux de conversion (ratio masse de nourriture offerte (g) / croissance de la sole en masse (g)) est diminué de 20 %. Leur digestion

semble donc plus facile, elle mobilise moins d'énergie et cette énergie peut être investie dans la croissance.

4.2.2. Effet de l'oxygène

La durée de la digestion augmente avec la baisse de la concentration en oxygène. Cet allongement est une conséquence de l'augmentation du coût énergétique de la digestion (SDA) en hypoxie sévère par rapport à la normoxie. En d'autres termes, la quantité d'O₂ nécessaire à la digestion du repas est plus importante alors que la quantité d'O₂ dont dispose l'animal est réduite (capacité métabolique réduite). Exprimée en pourcentage de l'énergie ingérée (coefficient *R*), l'augmentation significative de la SDA en hypoxie (+ 71 %, $p = 0,0148$) est en accord avec les résultats obtenus par Jordan et Steffensen (2007) chez la morue (+ 85 %, $p < 0.05$). Cependant, dans leur étude, bien que la valeur brute de SDA (en kJ) augmente de 65 % en hypoxie, cette différence n'est pas significative. Cette différence est paradoxale car selon si la SDA est exprimée en kJ ou en % de l'énergie ingérée, les conclusions diffèrent. Dans un cas, la SDA augmente en hypoxie, dans l'autre elle n'augmente pas. Ces conclusions découlent probablement du fait que la valeur énergétique du repas par unité de masse varie au cours de l'expérience de Jordan et Steffensen (2007). Par conséquent selon, si la SDA est exprimée en kJ ou en % de l'énergie ingérée, la variabilité des résultats est plus ou moins importante. Or, cette variabilité peut influencer la significativité des tests statistiques. Afin de standardiser les résultats, la valeur énergétique du repas ingéré ne devrait pas varier. Le repas devrait conserver une composition chimique identique au cours de l'expérience, comme c'est le cas dans notre étude (si la taille du repas ne varie pas).

Il n'en reste pas moins que l'augmentation de la SDA en hypoxie est surprenante, que ce soit chez la sole ou la morue. En effet, la quantité d'oxygène nécessaire à la digestion devrait être identique puisque la taille et la nature du repas restent identiques. Toutefois,

l'hypothèse que l'on peut avancer est que la digestion est moins efficace en hypoxie sévère et requiert plus d'oxygène qu'en normoxie. Afin de tenter de comprendre pourquoi, il faut préciser à quoi correspond la mesure de la SDA. La SDA comprend la consommation d'oxygène totale nécessaire à la digestion et à l'assimilation d'un repas. Or, la digestion possède plusieurs composantes mécaniques et chimiques qui ne sont pas différenciées dans une mesure de la SDA. On sait par exemple que la synthèse protéique représente une part importante de la SDA. Chez la morue par ex., elle peut nécessiter 23 à 44 % de la SDA (Lyndon *et al.*, 1992). Elle comprend également l'énergie allouée au péristaltisme, à la sécrétion d'acide gastrique ou les processus de stockage de graisse. Or, l'impact de l'hypoxie sur chacun de ces processus est pour la plupart, inconnu. Certains ont un lien direct avec la disponibilité en oxygène dissous chez les poissons (fonctionnement musculaire du tube digestif par ex.), d'autres un lien indirect (production d'enzymes, croissance). De plus, l'impact est peut-être différent selon les espèces. Les processus dont on pense que le coût énergétique peut-être inclus dans la mesure de SDA sont nombreux. McCue (2006) les a classés en 3 catégories : ceux qui précèdent, ceux qui participent et ceux qui suivent l'absorption intestinale des nutriments. La première catégorie comprend par exemple le péristaltisme du tube digestif, la sécrétion d'enzymes, le catabolisme des protéines ou la régulation du pH sanguin. La phase d'absorption correspond au transport des nutriments dans le sang à travers la paroi de l'intestin. Les processus compris dans la troisième catégorie sont par exemple la synthèse protéique, la production de glycogène, la cétogenèse, la désamination et/ou l'oxydation des acides aminés, la production d'ammoniaque et la croissance (Fig. 30). Ces processus sont liés entre eux et il est difficile de les étudier séparément. Par exemple, la production d'urée dépend de la désamination des acides aminés qui dépend elle-même du catabolisme et de l'anabolisme des protéines. Par conséquent, si de nombreuses avancées ont été faites dans la compréhension de l'influence de certains facteurs environnementaux (température, oxygène) et endogènes (composition, taille du repas) sur la SDA, les mécanismes sous-jacents n'ont pas encore été expliqués en raison de leur complexité.

L'allongement de la période postprandiale en hypoxie peut entraîner deux types de réponse de comportement alimentaire chez la sole. L'animal peut réduire sa fréquence de nourrissage, c'est-à-dire ingérer un repas tout aussi conséquent qu'en normoxie mais se nourrir moins souvent pour avoir le temps de le digérer. La deuxième hypothèse est que l'animal réduit sa ration alimentaire et conserve sa fréquence de nourrissage. Ces deux hypothèses ne sont pas mutuellement exclusives. Afin de statuer, il aurait été nécessaire de mesurer la ration alimentaire et la fréquence de nourrissage de chaque sole individuellement. Notre protocole n'a pas permis ces mesures. Toutefois, les études publiées à ce jour montrent une tendance à la réduction de la ration alimentaire en hypoxie (Chabot et Dutil, 1999; Thetmeyer, 1999; Foss *et al.*, 2002; Person-Le Ruyet *et al.*, 2003). A notre connaissance, il semble que la fréquence de la prise alimentaire en hypoxie n'ait fait l'objet d'aucune étude.

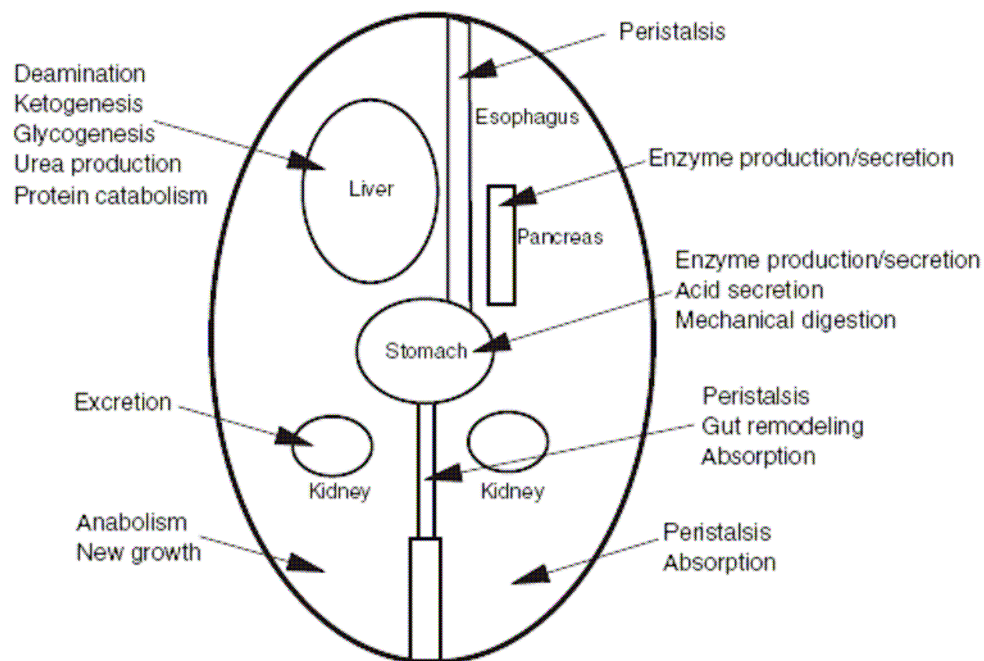


Figure 30. Schéma illustrant certains des processus physiologiques qui semblent contribuer à la SDA (d'après McCue, 2006)

A taille de repas identique, le pic de SDA ne varie pas significativement avec la concentration en oxygène dissous. Toutefois, le pic de SDA moyen correspond parfaitement à la valeur théorique de l'AMR établie par Lefrançois et Claireaux (2003) à 30 et 40 % de saturation (Fig. 29). L'énergie allouée à la digestion occupe alors la totalité du registre métabolique disponible en hypoxie. Ces résultats sont en accord avec ceux de Jordan et Steffensen (2007) sur la morue, la part de la digestion augmente en hypoxie avec la diminution du registre métabolique. Chez la sole, le pic de SDA serait limité par le registre métabolique à 40 et 30 % sat. Toutefois, on observe que le métabolisme maximal excède le maximum théorique calculé par Lefrançois et Claireaux (2003) de 43 % à 40 % de saturation et de 22 % à 30 % de saturation (Fig. 29). Lors de l'expérience réalisée par Lefrançois et Claireaux (2003) les soles étaient à jeun. Or l'augmentation du métabolisme actif d'un animal nourri par rapport au même animal à jeun a déjà été observée. En fait, selon les études, plusieurs cas de figure ont été répertoriés. L'AMR mesuré lors d'un test d'effort (nage) sur des animaux à jeun puis nourris, peut être identique (Alsop et Wood, 1997; Thorarensen et Farrell, 2006), ou plus élevé lorsque l'animal est nourri (Blaikie et Kerr, 1996; Bennett et Hicks, 2001). Ces études ont mené à l'élaboration de deux types de modèle théorique, le modèle de « priorisation » ou celui « d'additivité ». Dans le modèle de priorisation, la priorité est donnée à la digestion. Le métabolisme maximal reste identique que l'animal soit nourri ou à jeun (Fig. 33). Cependant, lorsque l'animal est nourri, l'énergie allouée à la digestion n'est pas disponible pour d'autres fonctions, comme la nage. Dans ces conditions, les performances de nage de l'animal sont réduites et on observe une réduction de la vitesse critique (Alsop et Wood, 1997; Thorarensen et Farrell, 2006). Dans le modèle d'additivité, la dépense énergétique due à la digestion est ajoutée au registre métabolique mesuré à jeun. Le métabolisme de la sole semble répondre à ce dernier modèle tout comme la morue, le python molure (*Python molurus*) ou le varan des savanes (*Varanus exanthematicus*) (Blaikie et Kerr, 1996; Bennett et Hicks, 2001). Thorarensen et Farrell (2006) ont émis l'hypothèse que le système cardio-vasculaire était à l'origine de cette différence inter-espèce. Plus précisément, la capacité de transport de l'oxygène par le sang artériel serait différente. Chez la truite arc en ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et le saumon royal (*O. tshawytscha*), lorsque l'animal est à jeun, le flux sanguin alloué au tube digestif est dévié vers les muscles locomoteurs lorsque que la

demande en oxygène augmente, car l'animal ne peut subvenir à la demande énergétique de la totalité des organes (tube digestif et muscles). Par conséquent, lors d'un exercice postprandial, le flux sanguin qui alimente le tube digestif pour procéder à la digestion ne peut pas être alloué aux muscles locomoteurs. La demande énergétique augmente alors au niveau du muscle mais l'apport en oxygène reste insuffisant. Les performances natatoires des salmonidés sont alors limitées. La sole, la morue, le varan des savanes ou le python molure sont capables de soutenir l'augmentation de la demande en oxygène, à la fois par le tube digestif et les muscles locomoteurs lors d'un exercice postprandial.

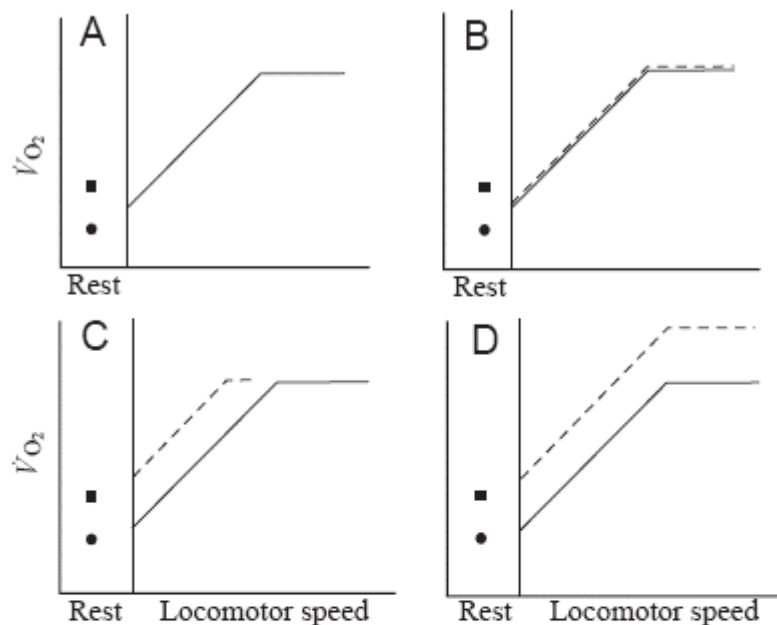


Figure 31. Schémas illustrant quatre modèles théoriques de la place du métabolisme alloué à la digestion par rapport au métabolisme mesuré à jeun lors d'un test d'effort. ● représente le SMR à jeun et ■ le SMR de l'animal nourri. (A) Profil précédemment publié du MMR mesuré sur des animaux immobiles nourris ou sur des animaux à jeun lors d'un test d'effort (B) Priorité donnée à l'exercice. La MO_2 mesurée sur un animal en exercice et nourri ne se distingue pas de la MO_2 mesurée sur un animal en exercice à jeun. (C) Priorité donnée à la digestion. Le coût métabolique de la digestion est maintenu durant l'exercice, diminuant la performance. (D) Additivité. Le coût métabolique de la digestion est maintenu durant l'exercice et MMR est augmenté d'autant. (Bennett et Hicks, 2001)

5. Conclusion

L'impact de la réduction de la disponibilité en oxygène sur la croissance est lié au registre métabolique de l'espèce considérée et au coût énergétique de la digestion. En effet, nous savons que la concentration en oxygène de l'eau influence directement le registre métabolique (Lefrançois et Claireaux, 2003). De plus, j'ai démontré que quel que soit le niveau d'hypoxie, le coût de la digestion d'un repas moyen représente approximativement $40 \text{ mg O}_2 \text{ kg}^{-1} \text{ h}^{-1}$ ce qui représente chez la sole, 25 % du registre métabolique en normoxie mais la totalité du registre métabolique en hypoxie à 30 et 40 % de saturation. D'autre part, l'hypoxie influence de manière indirecte le coût énergétique de la digestion qui augmente de plus de 70 % en hypoxie sévère. A ce niveau d'hypoxie, la quantité d'énergie allouée à la digestion étant alors limitée par le registre métabolique, la durée de la digestion est deux fois plus longue. La variation de la durée de la digestion influence la fréquence et/ou la taille des repas, c'est-à-dire la quantité de nourriture ingérée par unité de temps. Or, il a déjà été démontré chez de nombreuses espèces de poissons que la quantité de nourriture ingérée déterminait le taux de croissance.

On observe généralement un phénomène de croissance compensatoire après une période de croissance réduite, lorsque les conditions optimales de nourrissage (Zhu *et al.*, 2001; Ali *et al.*, 2003) ou d'oxygénation (Bejda *et al.*, 1992; Foss et Imsland, 2002) sont restaurées. Le rattrapage de croissance implique un investissement accru en énergie allouée à la digestion. Or, dans notre étude, à 40 % de saturation, la SDA des juvéniles de sole occupait déjà la totalité du registre métabolique. Il est toutefois probable que si les soles avaient été placées en normoxie plutôt qu'à 40 % de saturation, une croissance compensatoire aurait pu être observée. En effet, le registre métabolique plus important à cette concentration aurait laissé la possibilité d'allouer plus d'énergie à la digestion. Des expériences complémentaires permettraient de statuer.

- Chapitre III -

Interaction entre le teneur en exopolysaccharides du
substrat et la tolérance à l'hypoxie chez la sole :
conséquences sur la sélection de l'habitat



Ce troisième et dernier chapitre est présenté sous la forme d'un article soumis pour publication dans « Journal of Fish Biology ». Tout comme le 1^{er} chapitre, le manuscrit est précédé d'une introduction en français et suivi d'une synthèse incluant les principaux résultats de l'étude.

Dans le premier chapitre, j'ai confirmé que la présence d'EPS dans l'eau influençait les propriétés rhéologiques de l'eau, notamment la viscosité. J'ai mis en évidence les contraintes mécaniques exercées par l'augmentation de la viscosité de l'eau sur l'écoulement de l'eau sur les branchies et les conséquences physiologiques sur le travail ventilatoire des soles. J'ai observé un accroissement de la variabilité interindividuelle du métabolisme de routine en présence d'EPS en hypoxie. Dans le second chapitre, j'ai estimé l'ampleur de la limitation imposée par la baisse de la disponibilité en oxygène sur un facteur qui intègre les performances physiologiques de l'animal, la croissance. J'ai pu observer que la croissance était limitée en hypoxie sévère car la concentration en oxygène dissous réduisait le registre métabolique de la sole, augmentait le coût métabolique de la digestion et par conséquent la durée de la digestion.

A partir de ces observations, je me suis interrogée sur le comportement de la sole en terme de sélection d'habitat sur le terrain en présence d'EPS lors d'une hypoxie. J'ai donc reproduit expérimentalement les conditions environnementales auxquelles sont exposées les soles dans les pertuis Charentais où la concentration en oxygène dissous peut être inférieure à 30 % de saturation et la concentration en EPS peut atteindre 15 mg l⁻¹. Ainsi, j'ai tenté de déterminer dans quelle mesure la sélection d'habitat était orientée par la charge en EPS de l'eau et si la réduction de l'oxygénation de l'eau interférait avec cette réponse comportementale. Les poissons ont été placés dans un aquarium à deux compartiments, l'un contenant du mollin, naturellement riche en EPS et l'autre contenant du sable (sans EPS). La distribution des poissons entre les compartiments a été analysée au cours du temps en conditions normoxiques et hypoxiques (35 % de saturation à l'air). Notre hypothèse initiale

était qu'à cause des limitations imposées au flux ventilatoire, les poissons éviteraient les sédiments contenant une forte concentration en EPS et que cette réponse serait amplifiée en condition de disponibilité en oxygène réduite.

**Interaction between substratum exopolymers (EPS)
level and tolerance to hypoxia in the common sole *Solea
solea* (L.): consequences for habitat selection**

Christine Couturier^{1*} and Guy Claireaux²

1: Centre de Recherche sur les Ecosystèmes Littoraux Anthropisés, Place du Séminaire, L'Houmeau, 17137 France.

2: Institut des Sciences de l'Evolution de Montpellier, Département de Biologie Intégrative, Station Méditerranéenne de l'Environnement Littoral, 1 quai de la Daurade, Sète, 34200 France.

* Corresponding author: Tel: +33 5 46 50 06 48, Fax: +33 5 46 50 06 00

christinecouturier@hotmail.com

Running head title: Habitat selection in sole

Keywords: *Solea solea*, Water viscosity, Substratum, Hypoxia, Habitat selection, EPS

Abstract

Intensive bivalve culture is generally associated with substantial biodeposition. Biodeposition is associated with increased level of exopolymers, mainly exopolysaccharides (EPS), at the interface between water column and seabed. EPS are long-chain molecules organised in colloids and they are known to influence the rheological properties of water and particularly viscosity. EPS-induced changes in water viscosity affect ventilatory water flow through the gill cavity of juvenile fish. For instance it has been shown that increased water EPS loads are associated with reduced abilities of young fish to face increased metabolic demand or reduced oxygen availability. The objectives of the current study were to examine the behavioural response of sole in environmental situations combining changing sediment quality (EPS content) and water oxygenation level (100 and 37 % air saturation). We showed that the distribution of sole was differently influenced by the type of substratum depending on the water oxygenation level. In normoxia, sole preferentially settled on sand whereas under hypoxic conditions, sole preferentially settled on the muddy substratum. In order to explain these apparently counter-intuitive observations we propose that young sole may use cutaneous respiration, young sole are able to take advantage of the large quantities of oxygen produced by microphytobenthic organisms present in the upper few millimetres of muddy substratum.

1. Introduction

The French Atlantic coast comprises a series of large intertidal mudflats which are colonised by juveniles of numerous flatfish species including the common sole *Solea solea*, L. (Le Pape, 2003). These ecosystems are heavily exploited by the shellfish farming industry (Gouletquer et Le Moine, 2002). Intensive bivalve (mussel and oyster) culture is associated with substantial biodeposition. For instance, in Marennes-Oléron Bay the culture of 38 000 t of oysters entails the production of 600 tons dry mass of biodeposits per square km per day (Sornin *et al.*, 1986). Directly (faeces and pseudofaeces) or indirectly (diatoms biofilm), this biodeposition contributes to increase the amount of exopolymers, mainly exopolysaccharides (EPS) at the interface between water column and seabed (Dinet *et al.*, 1990; Barillé et Cognie, 2000; Wotton et Gordon, 2005; Couturier *et al.*, 2007). EPS are long-chain molecules organised in colloids and they are known to influence the rheological properties of water and particularly viscosity (Jenkinson et Biddanda, 1995). The EPS-induced viscosity has been shown to affect ventilatory water flow through the gill cavity of juvenile fish (Jenkinson et Arzul, 1998; Jenkinson et Arzul, 2002). As viscosity increases, mechanical constraints are exerted on the ventilatory water flow, entailing supplementary muscular workload and, eventually, resulting in ventilatory distress. Accordingly, it has been shown that increased water EPS load is associated with reduced abilities of some of young fish to face increased metabolic demand or reduced oxygen availability. Moreover, it has been demonstrated that these effects are species- and size-dependant. Species with high metabolic demand have developed gill apparatus, i.e. larger exchange surface for higher oxygen supply (Hughes, 1966). This species with high metabolic demand or small individuals are more sensitive to water viscosity condition (Couturier *et al.*, 2007).

Moreover, biodeposits degradation entails high rates of oxygen consumption by micro-organisms in the sediment. Recycling of organic matter in an oyster culture zone was shown to generate long term hypoxic events, i.e. 10 days below 40 % saturation including 3

days below 20 % sat. (Bouchet *et al.*, 2007). The latter concentration is lethal for a majority of fish species (Bruslé et Quignard, 2004).

With these physical and physiological constraints as a background, the main objective of the current study was to further investigate the ecological relevance of the accumulation of EPS on seabed. We examined to what extent habitat selection was driven by water EPS load and whether reduced water oxygenation interfered with this behavioural response. Fish were placed in a 2-compartment choice box, one compartment containing EPS-rich natural mud as substratum and the other containing EPS-free sand. The distribution of fish between compartments was examined over time under normoxic and hypoxic conditions (37 % air saturation). Our initial hypothesis was that, because of the limitations imposed on ventilatory flow, young fish would avoid areas presenting high levels of EPS and that this response would be aggravated in conditions of reduced oxygen availability.

2. Materials and methods

2.1. Experimental fish

Sole (10.04 ± 0.48 g) were trawled in Aiguillon Cove (Nov.-Déc. 2005). Upon arrival in the laboratory, fish were transferred into 400-l tanks situated in a thermoregulated room (15 °C). In that room, artificial dimmed lighting maintained a photoperiod 12L:12D. Red light (painted neon tube) was used to limit the disturbance and stress associated with direct white light. Tanks were supplied with recirculated and biofiltered natural sea water (water renewal rate: ~30 % per week; 15 °C). Fish were kept under these conditions for 3 weeks prior to any experimentation. Three times a week fish were fed to satiation with commercial dry pellets (IDL Solea Go 3 mm, INVE Aquaculture Nutrition, Calonne-sur-la-Lys, France).

2.2. Fluff sampling protocol

Mud was collected weekly at low tide in the immediate vicinity of an oyster rearing facility (Pampin Beach, L'Houmeau, France). Only the first centimetre of the muddy sediment (containing fluff) was collected, comprising the substrate that sole inhabit. After homogenisation, samples were allowed to settle 2 hours in order to separate the heaviest particles (sand) from the fluff. The superficial water was removed and the fluff gently retrieved and kept at 4 °C to limit EPS degradation. According to Carlson (1987) no significant modification of viscosity occurs during the first 5 days following collection.

2.3. Habitat selection

2.3.1. Experimental set-up

The experimental set-up (Fig. 34) was placed in the same room than the fish rearing tanks. It consisted of two tanks of equal dimensions (100 x 50 x 30 cm). Each tank was divided in two compartments by a clear plastic inner wall. The bottom of each compartment was covered with either 2 cm of mud (EPS-rich) or 2 cm of sand (EPS-free). Two holes at the bottom corners of the inner walls allowed sole to move freely between compartments. Tanks were placed side by side and head to tail i.e., in one of the tanks mud was allocated to the right compartment and sand to the left and the reverse for the other tank. Fish groups were tested in both tanks alternatively in order to limit possible consequences of external disturbances.

Water oxygenation was set using counter current gas equilibration columns bubbled with either air or nitrogen. Water oxygenation level was maintained automatically (LoliOxy,

Loligo, Denmark) at 100 % (normoxia) or 37 % air saturation (hypoxia). Water from the tank was conveyed to the column by a pump and the water returned to each compartment by gravity ($\sim 0.60 \text{ l min}^{-1}$).

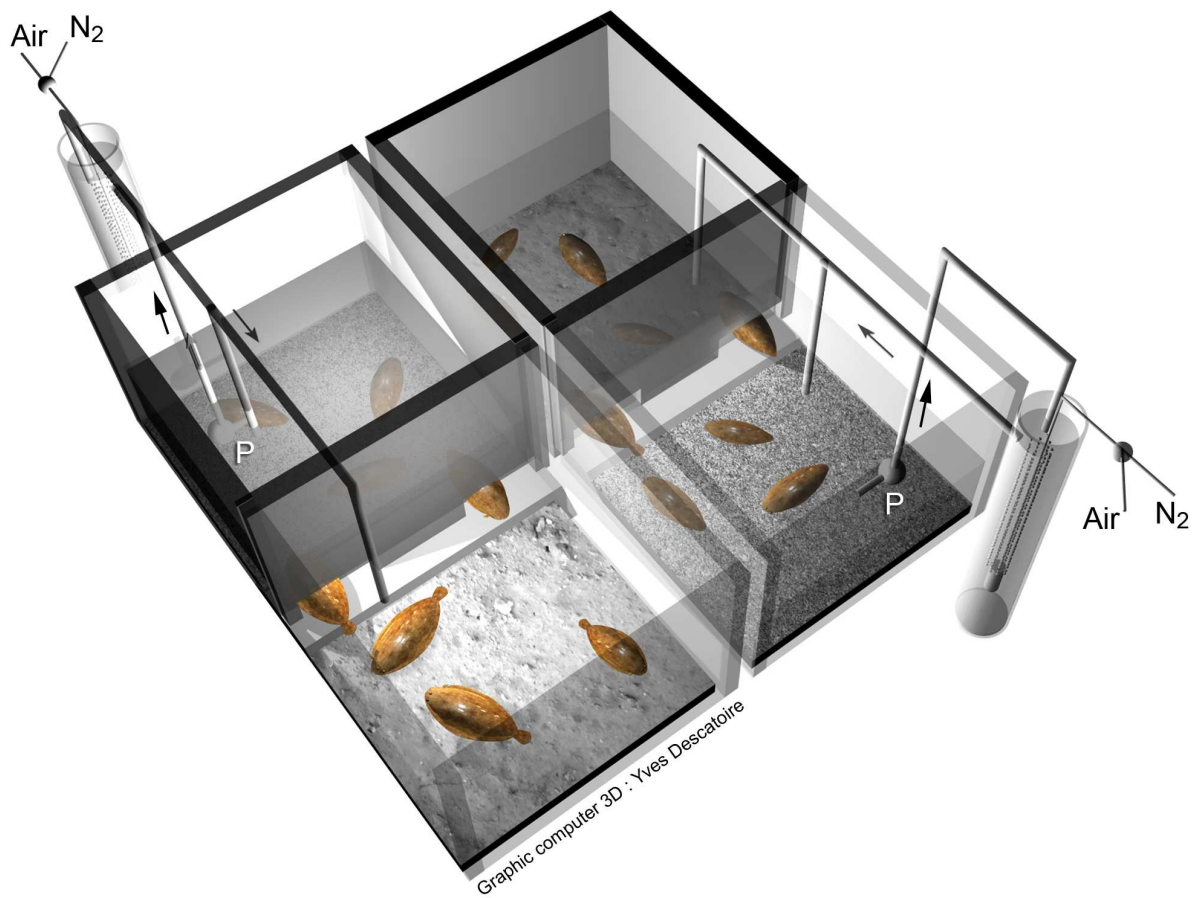


Figure 32. Experimental set-up

2.3.2. Protocol

For each experimental trial, two groups of 8 fish were tested simultaneously. At the beginning of the experiment, 4 fish from each 8-fish-group were randomly distributed among the 2 compartments of a given tank. During the first 2 days of the experiment, water oxygenation was set at 100 % air saturation. During that period, the number of fish in each compartment was monitored visually every hour. No data were collected during night-time (15h). At the end of that first 48-hour period, and in order to ensure that no external disturbance interfered with our experiment, fish groups were swapped between tanks and reallocated randomly between compartments. At that time, another 48-hour monitoring period was initiated. At the end of the second monitoring sequence, fish were removed from the experimental set-up which was cleaned and prepared for a second set of experiment with the same fish groups. That second set of experiments followed the same protocol as before except that water oxygenation was now set at 37 % air saturation. These experiments were repeated on a total of 6 groups of fish. Water samples at the interface between water column and substratum were collected in each compartments at least once every 48 h to assay EPS concentration. Temperature, salinity and water oxygenation were monitored continuously and in both tanks.

2.4. Exopolysaccharides content

Water samples collected during experiments were frozen and kept at $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ until analysed. Exopolysaccharide (EPS) concentrations were measured (triplicate) using the phenolic-sulfuric acid assay developed by Dubois *et al.* (Dubois *et al.*, 1956) and modified by Gershakov and Hatcher (Gershakov et Hatcher, 1972). Briefly, colloidal carbohydrates were first extracted with hot distilled water ($60\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 1 h) before being precipitated in ethanol. EPS were measured by a colorimetric method using a phenol-sulphuric acid assay with D-glucose dissolved in H_2O used as standard.

2.5. Data analyses and statistics

Water oxygenation data (% saturation) were transformed using the arcsines of their square root. A one-way ANOVA was conducted to compare means of EPS concentration in water in each compartment (containing sand and mud) of each tank A and B. Then a one-way ANOVA was performed to compare the transformed variables. The number of fish counted every 1 h in sandy compartments was expressed as a percentage of the total number of fish in the tank (100 % = 8; Tab. 3). Percentages were averaged per 1 hour-blocks through the 6 fish groups in tank A and B separately. Fish occurrences on sand (%) were transformed using arcsines of their square root (Sokal et Rohlf, 1995). A bilateral paired t-test was conducted to examine the tank effect (A and B) in normoxia, then a second one was conducted in hypoxia. First a Bartlett's test was used to verify the homogeneity of variance between tanks A and B, at each level of oxygenation. No tank effect was observed neither in normoxia ($n = 6$; $t_{[5]} = -0.0066$; $p = 0.995$) nor in hypoxia ($n = 6$; $t_{[5]} = -1.81$; $p = 0.129$). Then, % of occurrence were averaged for each group of fish through tanks and transformed using arcsines of their square root. A Bartlett's test was used to test the homogeneity of variance between each level of oxygenation (normoxia vs. hypoxia). Finally, a paired t-test ($n = 6$) was conducted to examine the effect of oxygenation level (normoxia and hypoxia) upon $\arcsin(\sqrt{\% \text{occurrence}})$.

Tableau 3. Experimental data collected for every 6 groups of 8 fish.

Fish group n (n from 1 to 6)	Sable A	Sable B
Normoxie (100 % sat.)	t = 0 → 50 % t = 2 → X % sat. t = 4 → Y % sat. t = 4 → Z % sat. ...	t = 0 → 50 % ...
Hypoxie (35 % de sat.)	t = 0 → 50 % ...	t = 0 → 50 % ...

3. Results

3.1. Oxygen content

Oxygen content during the hypoxic periods reached 39.30 ± 1.20 % saturation in tank A and 34.37 ± 1.20 % in tank B. These values were not significantly different from each other ($F_{[1]} = 1.11$; $p = 0.31$). Air bubbling ensured water saturation to air during normoxic periods.

3.2. Fluff characteristics: EPS content

EPS concentrations in water were significantly higher at the interface with the muddy substratum than at the interface with sand (Fig. 35; $F_{[3]} = 10.50$; $p = 0.0002$). EPS concentrations in the compartments containing sand were not significantly different from zero.

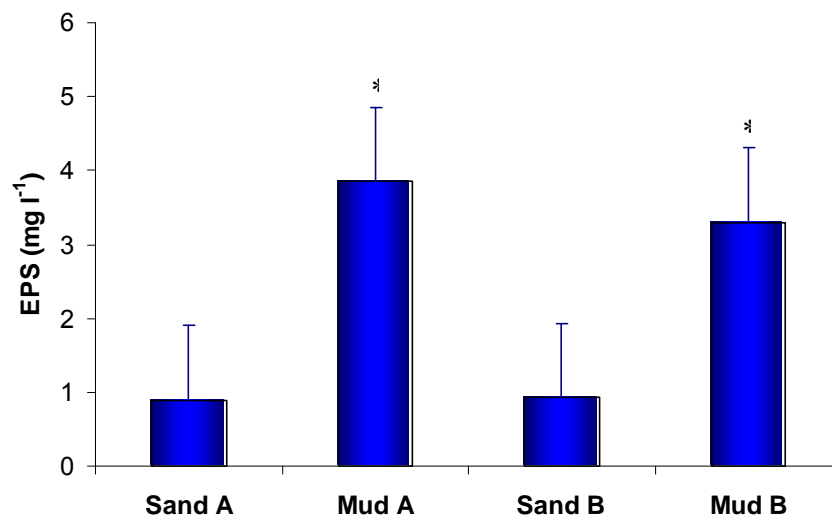


Figure 33. Exopolysaccharides concentration in water at the interface with seabed for both compartments of tanks A and B. Stars indicate significant differences.

3.3. Habitat selection

By the mean, 57.50 % of fish were positioned on sand in normoxia and 42.37 % The Bartlett's test showed homogeneity of variance between hypoxic and normoxic groups ($F_{[1]} = 0.147$; $p = 0.702$). The effect of oxygenation level (100 vs. 37 %) upon fish distribution was significant (bilateral paired t-test; $t_{[5]} = 2,599$; $p = 0.048$). In normoxia, sole were mainly distributed on sand whereas sole preferentially settled on mud in hypoxia (Fig. 36 and 37).

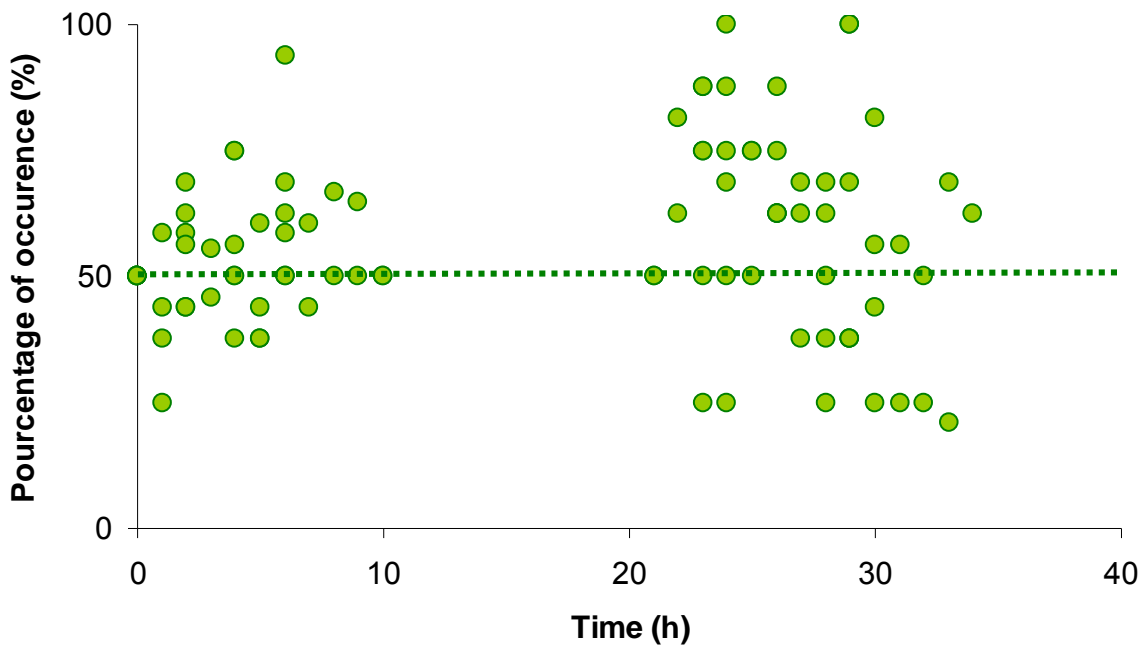


Figure 34. Percentage of fish occurrence on sandy substratum in both tanks A and B in normoxic water.

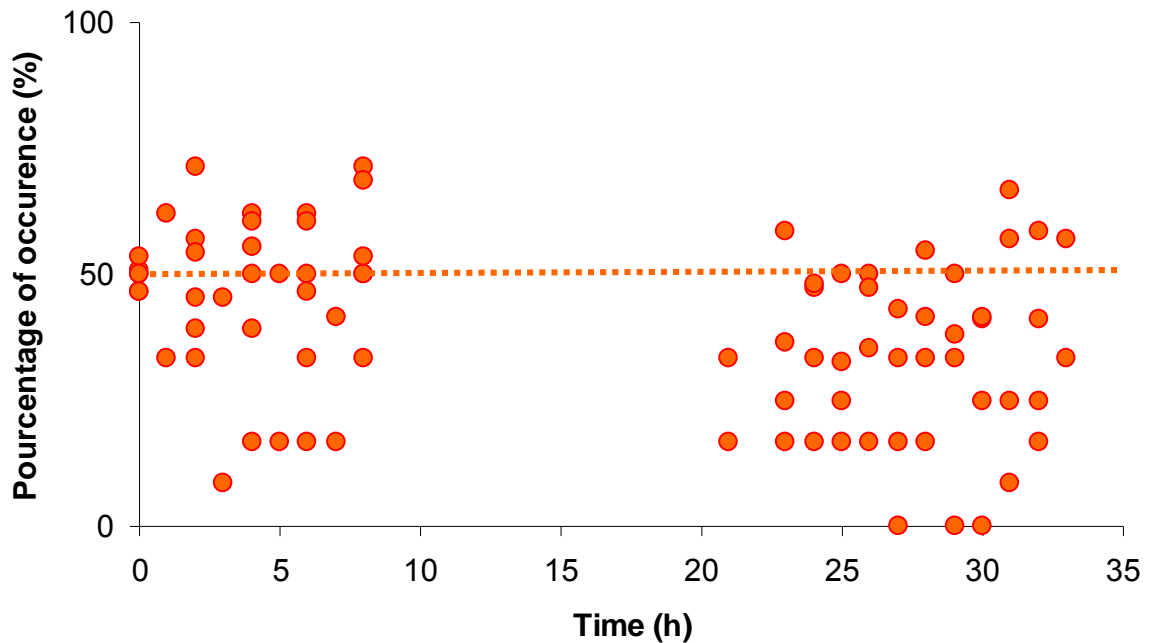


Figure 35. Percentage of fish occurrence on sandy substratum in both tanks A and B in hypoxic water (34-39 % air saturation).

4. Discussion

The objectives of the current study were to examine the behavioural response of sole in environmental situations combining different sediment qualities (either sand or mud with high EPS content) and water oxygen levels (either 100 or 37 % air saturation). We were able to show that sole distribution was differently influenced by the type of substratum depending on the water oxygen level. In normoxia, sole preferentially settled on sand whereas under hypoxic conditions, sole preferentially settled on the muddy substratum.

Grain size of sand used in our experiment was around 200-300 μm whereas grain size of mud was around 10 μm (Couturier *et al.*, 2007). Previous studies have shown that flatfish do select their habitat based on sediment grain size *e.g.*, (Gibson et Robb, 1992). Flatfish distribution is

thought to reflect size-dependant burial capabilities (Stoner et Abookire, 2002) and field observations have revealed that juvenile sole are found on fine sediment such as sand, mud or mixed sand and mud (Rogers, 1992; Gibson, 1997; Amezcua et Nash, 2001; Le Pape, 2003). Moreover, in our experiment, fish buried on sand the same way as in mud. On that basis, we believe that sediment grain size was not the main driving force of habitat selection in the present experiment.

As expected, EPS load was significantly higher in compartments that contained the muddy substratum. EPS are known to influence water viscosity (Jenkinson et Biddanda, 1995) and they have been shown to have an impact upon ventilatory activity of juvenile sole (Couturier *et al.*, 2007). This earlier study particularly highlighted the fact that EPS concentrations above 3 mg l⁻¹ resulted in ventilatory distress, presumably caused by the inability of the opercular and buccal muscles to compensate for the associated increase in water viscosity. In the present experiment EPS concentrations in compartments that contained mud were above 3 mg l⁻¹, potentially explaining why sole avoided the muddy substratum under normoxic conditions. However, contrary to what was initially hypothesised, avoidance of the EPS-rich sediment was not aggravated by hypoxia. Conversely under such conditions sole settled preferentially on mud.

In order to explain these apparently conflicting observations we would like to raise the following points. Firstly, it has been demonstrated that the blind side of sole is involved in cutaneous oxygen uptake and that it can provide up to 30 % of the animal's oxygen requirements (Nonnotte et Kirsch, 1978). Secondly, microphytobenthic communities are able to generate sufficient oxygen to generate a hyperoxic superficial layer in sediment, through photosynthesis. For example, Brotas *et al.* (2003) report field observations of hyperoxic conditions (600 µM i.e., 300 % air saturation) in the first 0.5 mm of a muddy sediment colonized by benthic microalgae (diatoms). Likewise, under laboratory conditions, Revsbech and Jørgensen (1983) measured oxygen concentration up to 1300 µM (475 % saturation) in the upper layer of a diatom-rich sediment. These authors also showed that oxygenation level

in the first 1 mm-layer of the sediment was more than twice that found in water directly above it.

The above observations suggest that under hypoxic water conditions, young sole may, via their skin, take advantage of the oxygen supply provided by microphytobenthos photosynthesis activity. This regulatory behaviour would explain why sole preferentially selected the muddy substratum. An additional point is worth mentioning here. To reduce fish disturbance, our experimental set-up was placed in a room which was illuminated with neon lights painted in red (see Material and Methods). Red light is known to enhance photosynthesis in microalgae (Aidar *et al.*, 1994). Obviously, specifically dedicated experiments, including an appropriate control of the lighting conditions, are needed in order to clarify this point.

5. Acknowledgements

Authors would like to thank Drs R. Batty and P. Richard for discussing some of the issues raised by the current paper and Dr D. Chabot for his valuable comments on statistical analyses. We would also like to acknowledge the technical assistance of L. Joassard, Y. Descatoire and N. Lachaussée. C.C. was the recipient of a PhD fellowship from the Conseil Général de Charente Maritime. The financial support by the European Union, Directorate Fisheries, through contract QLRS-2002-00799, Project *ETHOFISH*, is also acknowledged.

Synthèse

Les objectifs de cette étude étaient d'examiner la réponse comportementale des soles face à des conditions environnementales combinant la qualité du substrat (teneur en EPS) et le niveau d'oxygénation de l'eau (100 et 35 % de saturation). Nous avons montré que le type de substrat influençait la distribution des soles dépendamment du niveau d'oxygénation de l'eau.

Mes résultats corroborent les résultats présentés dans le premier chapitre. En normoxie, les soles évitent le compartiment où la concentration en EPS est supérieure à 3 mg l⁻¹, concentration à partir de laquelle elles montrent une détresse ventilatoire. Toutefois, contrairement à mon hypothèse de départ, la réaction d'évitement du sédiment riche en EPS n'a pas été amplifiée en hypoxie. *A contrario*, en conditions hypoxiques, les soles se placent majoritairement sur la vase.

Afin d'expliquer ce résultat apparemment paradoxal, plusieurs points sont à évoquer. Tout d'abord, il a été démontré que la face aveugle est un organe respiratoire chez nombre de poissons plats. Les échanges transcutanés fourniraient 30 % de la totalité des besoins en oxygène de la sole (Nonnotte et Kirsch, 1978). De plus, il est important de mentionner qu'à travers la photosynthèse, les communautés microphytobenthiques (principalement les diatomées) sont capables de générer suffisamment d'oxygène pour créer une couche superficielle hyperoxique au niveau du sédiment. Cette concentration peut atteindre 300 à 475 % de saturation selon les auteurs (Revsbech et Jørgensen, 1983); (Brotas *et al.*, 2003). Ces auteurs ont également montré que le niveau d'oxygénation du premier millimètre de sédiment était plus de deux fois supérieur à celui de la colonne d'eau juste au-dessus. La différence de concentration en oxygène entre la colonne d'eau et le sédiment superficiel pourrait amener les soles, *via* la peau, à tirer avantage de l'oxygène fourni par le microphytobenthos. Ce

comportement compensatoire expliquerait pourquoi les soles sélectionnent le substrat vaseux en hypoxie où le développement d'une biomasse de microphytobenthos plus importante est facilité par la finesse du sédiment et la matière organique générée par les huîtres. Sur le terrain, ce comportement pourrait apporter un avantage sélectif important aux soles. Des études complémentaires pourraient révéler si cette capacité des soles à bénéficier de l'oxygène produit dans le sédiment est également présente chez d'autres espèces et dans quelle mesure elle participe leur performance adaptative.

- Conclusion générale -



L'objectif de cette étude était d'évaluer, chez la sole, la limitation physiologique qu'entraînent les conditions environnementales dues à l'exploitation anthropique (conchyliculture) des vasières intertidales dans les pertuis charentais. Pour cela, deux approches complémentaires ont été mises en place. D'une part, des expériences ont été réalisées en laboratoire sur des juvéniles de poissons plats afin de tester l'impact de la viscosité de l'eau et de l'hypoxie. D'autre part, des mesures ont été réalisées sur le terrain afin d'évaluer la portée des résultats obtenus en laboratoire.

Cette étude a d'abord mis en évidence un impact de la viscosité de l'eau sur l'activité ventilatoire des juvéniles de sole. Avec l'augmentation de la viscosité, l'écoulement de l'eau dans les branchies est modifié. Le travail que doit fournir la sole afin de faire circuler l'eau pour prélever l'oxygène, augmente. Cet effet dépend de la taille et de l'espèce. Les animaux les plus petits et les espèces qui présentent les plus forts taux métaboliques sont plus sensibles à l'augmentation de la viscosité. Toutefois, ce travail supplémentaire n'a pas d'influence sur le métabolisme basal de la sole. Les conséquences sur la tolérance à l'hypoxie sont ambiguës. Seule une partie des animaux testés est plus sensible à la baisse de la disponibilité en oxygène dissous. L'augmentation de la variabilité de la réponse n'a pas eu d'influence sur la valeur moyenne de O_{2crit} . Cependant, il semble, d'après mes résultats que la viscosité de l'eau due à l'accumulation d'EPS puisse être un facteur limitant pour les juvéniles qui colonisent la vasière intertidale. Les expériences en laboratoire ont été réalisées dans une gamme de viscosité compatible avec la concentration en EPS mesurée sur le terrain qui peut atteindre 15 mg l^{-1} dans les endroits de faible remise en suspension. Un effet sélectif de la viscosité de l'eau sur le terrain est donc concevable mais reste à déterminer.

D'autre part, nous avons pu mettre en évidence un ralentissement de la croissance des juvéniles de sole en condition de disponibilité réduite de l'oxygène. Le ralentissement de la croissance témoigne d'une limitation physiologique due à l'hypoxie. Cette limitation provient de la réduction de l'approvisionnement en oxygène de la chaîne métabolique qui entraîne une

réduction du registre métabolique. La diminution du registre métabolique modifie la dynamique énergétique de la digestion. En hypoxie sévère, le registre métabolique est réduit de 60 %. Cette réduction limite la quantité d'oxygène allouée à la digestion par unité de temps. Par conséquent, la digestion est allongée. En hypoxie modérée, le taux de croissance n'est pas ralenti. La part du métabolisme alloué à la digestion occupe la totalité du registre métabolique mais est suffisante pour soutenir une croissance comparable à celle observée en normoxie.

Après avoir étudié séparément l'hypoxie et la viscosité, je me suis intéressée à l'effet conjugué des deux facteurs. J'ai analysé la réponse comportementale des soles grâce à un test de sélection d'habitat. Les soles avaient le choix de se placer sur un substrat riche en EPS (vase) ou un substrat ne contenant pas d'EPS (sable). En normoxie, les soles se sont majoritairement regroupées sur le sable. Elles ont évité le compartiment contenant une forte concentration en EPS. Toutefois, en hypoxie, l'étude a montré des résultats surprenants. Alors qu'un effet synergique de la viscosité et de l'hypoxie était prévisible, elles se sont pourtant concentrées de manière significative sur la vase. Bien que je ne l'ai pas mesuré, j'ai supposé que la teneur en EPS du substrat était liée à la concentration en microphytobenthos. C'est pourquoi je pense que la production d'oxygène par photosynthèse a été un facteur déterminant dans la répartition des soles. Cette supposition reste à démontrer. Il serait également intéressant de déterminer si la part du métabolisme qui dépend de la diffusion par la peau augmente avec la viscosité et/ou la baisse de l'oxygénation de l'eau.

Il est toutefois possible que la réponse comportementale des individus soit différente selon leur taille ou leur espèce. En effet, la taille des individus semble déterminante dans l'impact de la viscosité. De plus, des espèces présentant un taux métabolique élevé, tel que le turbot, sont plus sensibles à la viscosité et à la réduction de la disponibilité en oxygène. Cet effet sélectif relatif à l'espèce et la taille pourrait participer à l'altération de la composition spécifique des communautés de juvéniles occupant la vasière. Toutefois, nos résultats montrent que les soles sélectionnent un substrat vaseux en hypoxie. Par conséquent, il serait

intéressant de vérifier l'hypothèse que le microphytobenthos est capable de fournir suffisamment d'oxygène aux soles lors d'un évènement hypoxique, dans quelles conditions, et d'examiner les limites de cet apport en oxygène. Il serait également intéressant d'examiner cette hypothèse chez d'autres espèces que la sole, comme le turbot, dont les besoins en oxygène sont plus élevés. Ces résultats permettraient de définir plus précisément l'impact de la conchyliculture sur le processus de colonisation des vasières par les poissons plats et l'impact spécifique, dans l'optique de développement durable de l'activité conchylicole et de la pêche dans les pertuis charentais.

- Références bibliographiques -



A

- Aidar, E., Giancesella-Galvão, S. M. F., Sigaud, T. C. S., Asano, C. S., Liang, T. H., Rezende, K. R. V., Oishi, M. K., Aranha, F. J., Milani, G. M. et Sandes, M. A. L. (1994) "Effects of light quality on growth, biochemical composition and photosynthetic production in *Cyclotella caspia* Grunow and *Tetraselmis gracilis* (Kylin) Butcher." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **180**: 175-187.
- Ali, A., Nicieza, A. G. et Wootton, R. J. (2003) "Compensatory growth in fishes: a response to growth depression." *Fish and Fisheries*. **4**: 147-190.
- Alsop, D. H. et Wood, C. M. (1997) "The interactive effects of feeding and exercise on oxygen consumption, swimming performance and protein usage in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)." *Journal of Experimental Biology*. **200**: 2337-2346.
- Altamiras, J., Axelsson, M., Claireaux, G., Lefrançois, C., Mercier, C. et Farrell, A. P. (2002) "Cardiorespiratory status of triploid brown trout during swimming at two acclimation temperatures." *Journal of Fish Biology*. **60**: 102-116.
- Amara, R., Desaunay, Y. et Lagardère, F. (1994) "Seasonal variation in growth of larval sole *Solea solea* (L.) and consequences on the success of larval immigration." *Netherlands Journal of Sea Research*. **32**: 287-298.
- Amara, R. et Lagardère, F. (1995) "Size and age of the onset of metamorphosis of sole (*Solea solea*) in the Bay of Biscay." *ICES Journal of Marine Science*. **52**: 247-256.
- Amara, R., Lagardère, F., Desaunay, Y. et Marchand, J. (1999) "Metamorphosis and estuarine colonisation in the common sole, *Solea solea* (L.): implications for recruitment regulation." *Oceanologica Acta*. **23**: 469-484.
- Amezcuca, F. et Nash, R. D. M. (2001) "Distribution of the order Pleuronectiformes in relation to the sediment type in the North Irish Sea." *Journal of Sea Research*. **45**: 293-301.
- Andersen, N. G. (1998) "The effect of meal size on gastric evacuation in whiting." *Journal of Fish Biology*. **52**: 743-755.
- Andersen, N. G. (1999) "The effects of predator size, temperature, and prey characteristics on gastric evacuation in whiting." *Journal of Fish Biology*. **54**: 287-301.
- Arendt, J. D. (1997) "Adaptive intrinsic growth rates: an integration across taxa." *Quarterly Review of Biology*. **72**.
- Axelsson, M., Altamiras, J. et Claireaux, G. (2002) "Post-prandial blood flow to the gastrointestinal tract is not compromised during hypoxia in the sea bass *Dicentrarchus labrax*." *Journal of Experimental Biology*. **205**: 2891-2896.

B

- Ballintijn, C. M. et Hughes, G. M. (1965) "The muscular basis of the respiratory pumps in the trout." *Journal of Experimental Biology*. **43**: 349-362.
- Barillé, L. et Cognie, B. (2000) "Revival capacity of diatoms in bivalve pseudofaeces and faeces." *Diatom Research*. **15**: 11-17.
- Barnes, H. A., Hutton, J. F. et Walters, K. (1989) *An introduction to rheology*. Amsterdam, Elsevier, 212 p.
- Beamish, F. W. H. (1978) Swimming capacity. In *Fish Physiology*. Hoar, W. S. (ed.) **VII** Academic Press, London. p 101-187.
- Bejda, A. J., Phelan, B. A. et Studholme, A. L. (1992) "The effect of dissolved oxygen on the growth of young-of-the-year winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*." *Environmental Biology of Fishes*. **34**: 321-327.
- Bennett, A. F. et Hicks, J. W. (2001) "Postprandial exercise: prioritization or additivity of the metabolic responses?" *Journal of Experimental Biology*. **204**: 2127-2132.
- Blaikie, H. B. et Kerr, S. R. (1996) "Effect of activity level on apparent heat increment in atlantic cod, *Gadus morhua*." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **53**: 2093-2099.
- Blair, S. G. W. (1933) "On the Nature of "Yield-Value"." *Journal of Applied Physics*. **4**: 113-118.
- Booth, J. H. (1979) "The effects of oxygen supply, epinephrine and acetylcholine on the distribution of blood flow in trout gills." *Journal of Experimental Biology*. **83**: 31-39.
- Bouchet, V. M. P., Debenay, J.-P., Sauriau, P.-G., Radford-Knoery, J. et Soletchnik, P. (2007) "Effects of short-term environmental disturbances on living benthic foraminifera during the Pacific oyster summer mortality in the Marennes-Oléron Bay (France)." *Marine Environmental Research*. **64**: 358-383.
- Bougrier, S., Geairon, P., Deslou-Paoli, J. M., Bacher, C. et Jonquières, G. (1995) "Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg)." *Aquaculture*. **134**: 143-154.
- Boutilier, R. G., Dobson, G., Hoeger, U. et Randall, D. J. (1988) "Acute exposure to graded levels of hypoxia in rainbow trout (*Salmo gairdneri*): metabolic and respiratory adaptations." *Respiration Physiology*. **71**: 69-82.
- Brainerd, E. L. et Ferry-Graham, L. A. (2006) Mechanics of respiratory pumps. In *Fish biomechanics*. Lauder, G. V. (ed.) Fish Physiology **23** Elsevier, Amsterdam. p 1-28.

- Breitburg, D. L. (1992) "Episodic hypoxia in Chesapeake bay: interacting effects of recruitment, behavior, and physical disturbance." *Ecological Monographs*. **64**: 525-546.
- Breitburg, D. L., Steinberg, N., DuBeau, S., Cooksey, C. et Houde, E. D. (1994) "Effects of low dissolved oxygen on predation on estuarine fish larvae." *Marine Ecology Progress Series*. **104**: 235-246.
- Brett, J. R. (1979) Environmental factors and growth. In *Fish Physiology VIII - Bioenergetics and growth*. Brett, J. R. (ed.) Fish Physiology **VIII** Academic Press, New York. p 599-675.
- Brett, J. R. et Blackburn, J. M. (1981) "Oxygen requirement for growth of young Coho (*Oncorhynchus kisutch*) and Sockeye (*O. nerka*) salmon at 15°C." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **38**: 399-404.
- Brett, J. R. et Groves, T. D. D. (1979) Physiological energetics. In *Fish Physiology VIII - Bioenergetics and growth*. Brett, J. R. (ed.) Fish Physiology **VIII** Academic Press, New York. p 279-352.
- Brotas, V., Risgaard-Petersen, N., Serôdio, J., Ottosen, L., Dalsgaard, T. et Ribeiro, L. (2003) "In situ measurements of photosynthetic activity and respiration of intertidal benthic microalgal communities undergoing vertical migration." *Ophelia*. **57**: 13-26.
- Bruslé, J. et Quignard, J.-P., Eds. (2004) *Les poissons et leur environnement - écophysiologie et comportements adaptatifs*, Paris, France, Tec & Doc Lavoisier.

C

- Carlson, D. J. (1987) "Viscosity of sea-surface slicks." *Nature*. **329**: 823-825.
- Chabot, D. et Couturier, C. (2002). Estimating the impact of naturally occurring hypoxia on growth production of atlantic cod (*Gadus morhua*) from the northern gulf of St. Lawrence (Canada). Vth International Congress on the Biology of Fish, Vancouver, B.C., Canada. *American Fisheries Society, University of British Columbia, Vancouver, B.C., Canada Responses of fish to aquatic hypoxia*: 35-53.
- Chabot, D. et Dutil, J.-D. (1999) "Reduced growth of Atlantic cod in non-lethal hypoxic conditions." *Journal of Fish Biology*. **55**: 472-491.
- Chabot, D., Dutil, J.-D. et Couturier, C. (2001). Impact of chronic hypoxia on food ingestion, growth and condition of Atlantic cod, *Gadus morhua*. *ICES CM 2001/ V:05*.
- Chakraborty, S. C., Ross, L. G. et Ross, B. (1992) "Specific dynamic action and feeding metabolism in common carp, *Cyprinus carpio* L." *Comparative Biochemistry and Physiology*. **103A**: 809-815.

- Champalbert, G. et Koustikopoulos, C. (1995) "Behaviour, transport and recruitment of Bay of Biscay sole (*Solea solea*): Laboratory and field studies." *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. **75**: 93-108.
- Chapman, L. J., Galis, F. et Shinn, J. (2000) "Phenotypic plasticity and the possible role of genetic assimilation: hypoxia-induced trade-offs in the morphological traits of an African cichlid." *Ecology Letters*. **3**: 379-464.
- Chen, C.-C., Gong, G.-C. et Shiah, F.-K. (2007) "Hypoxia in the East China Sea: One of the largest coastal low-oxygen areas in the world." *Marine Environmental Research*. **64**: 399-408.
- Claireaux, G. et Lagardère, J.-P. (1999) "Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass." *Journal of Sea Research*. **42**: 157-168.
- Claireaux, G., Webber, D. M., Lagardère, J.-P. et Kerr, S. R. (2000) "Influence of water temperature and oxygenation on the aerobic metabolic scope of Atlantic cod (*Gadus morhua*)." *Journal of Sea Research*. **44**: 257-265.
- Cloern, J. E. (2001) "Our evolving conceptual model of the coastal eutrophication problem." *Marine Ecology Progress Series*. **210**: 223-253.
- Coussot, P. (1997) *Mudflow rheology and dynamics*. Rotterdam, Netherlands, A.A. Balkema, 255 p.
- Couturier, C., McKenzie, D. J., Galois, R., Robert, S., Rouault, A., Joassard, L. et Claireaux, G. (2007) "Influence of water viscosity on bioenergetics of the common sole *Solea solea* (L.): ventilation and metabolism." *Marine Biology*. **152**: 803-814.

D

- Dalla Via, J., Van den Thillart, G., Cattani, O. et Cortesi, P. (1998) "Behavioural responses and biochemical correlates in *Solea solea* to gradual hypoxic exposure." *Canadian Journal of Zoology*. **76**: 2108-2113.
- D'Amours, D. (1993) "The distribution of cod (*Gadus morhua*) in relation to temperature and oxygen level in the Gulf of St. Lawrence." *Fisheries Oceanography*. **2**: 24-29.
- Dare, P. J. et Edwards, D. B. (1975) "Seasonal changes in flesh weight and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in the Conwy Estuary, North Wales." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **18**: 89-97.
- Davis, J. C. (1975) "Minimal dissolved oxygen requirements of aquatic life with emphasis on Canadian species: a review." *Journal of Fisheries Research Board of Canada*. **32**: 2295-2331.

- Decho, A. W. (1990) "Microbial exopolymer secretions in ocean environments: their role(s) in food webs and marine processes." *Oceanography and Marine Biology: an annual review*. **28**: 73-153.
- Diaz, R. J. et Rosenberg, R. (1995) "Marine benthic hypoxia: a review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna." *Oceanography and Marine Biology: an annual review*. **33**: 245-303.
- Dinet, A., Sornin, J.-M., Sablière, A., Delmas, D. et Feuillet, M. (1990) "Influence de la biodéposition de bivalves filtreurs sur les peuplements méiobenthiques d'un marais maritime." *Cahier de Biologie Marine*. **31**: 307-322.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. et Smith, F. (1956) "Colorimetric method for determination of sugars and related substances." *Analytical chemistry*. **28**: 350-356.

E

- Eby, L. A. (2005) "Habitat degradation from intermittent hypoxia: impacts on demersal fishes." *Marine Ecology Progress Series*. **291**: 249-261.
- EEA (1999) State and pressures of the marine and coastal Mediterranean environment. Environmental issues series, Report n° 5. *European Communities EEA/UNEP*, Copenhagen. pp 137

F

- FAO (2002) Report and documentation of the International workshop on factors of unsustainability and overexploitation in fisheries (Bangkok, Thailand, 4-8 February 2002). Fisheries report n° 672 *United Nations*, Roma, Italy. pp 173
- FAO (2007) *The state of world fisheries and aquaculture 2006*. Roma, Italy, United Nations, 180 p.
- Fonds, M. (1979) A seasonal fluctuation in growth rate of young plaice (*Pleuronectes platessa*) and sole (*Solea solea*) in the laboratory at constant temperatures and a natural daylight cycle. In *Cyclic phenomena in marine plants and animals*. Hartnoll, R. G. (ed.) Pergamon Press, Oxford and New York. p 151-156.
- Fonds, M., Cronie, R., Vethaak, A. D. et Van der Puyl, P. (1992) "Metabolism, food consumption and growth of plaice (*Pleuronectes platessa*) and flounder (*Platichthys*

- flesus*) in relation to fish size and temperature." *Netherlands Journal of Sea Research*. **29**: 127-143.
- Foss, A., Evensen, T. H. et Oiestad, V. (2002) "Effects of hypoxia and hyperoxia on growth and food conversion efficiency in the spotted wolffish *Anarhichas minor* (Olafsen)." *Aquaculture Research*. **33**: 437-444.
- Foss, A. et Imslund, A. K. (2002) "Compensatory growth in the spotted wolffish *Anarhichas minor* (Olafsen) after a period of limited oxygen supply." *Aquaculture Research*. **33**: 1097-1101.
- Fritsche, R. et Nilsson, S. (1993) Cardiovascular and ventilatory control during hypoxia. In *Fish ecophysiology*. Jensen, F. B. (ed.) Chapman & Hall, London. p 180-206.
- Fry, F. E. J. (1971) The effect of environmental factors on the physiology of fish. In *Fish Physiology*. Randall, D. J. (ed.) **4** Academic Press, London. p 1-98.
- Fuiman, L. A. et Batty, R. S. (1997) "What a drag it is getting cold: partitioning the physical and physiological effects of temperature on fish swimming." *Journal of Experimental Biology*. **200**: 1745-1755.

G

- Gershakov, S. M. et Hatcher, P. G. (1972) "Improved technique for analysis of carbohydrates in sediments." *Limnology and Oceanography*. **17**: 938-943.
- Gibson, R. N. (1997) "Behaviour and the distribution of flatfishes." *Journal of Sea Research*. **37**: 241-256.
- Gibson, R. N. et Robb, L. (1992) "The relationship between body size, sediment grain size and the burying ability of juvenile plaice, *Pleuronectes platessa* L." *Journal of Fish Biology*. **40**: 771-778.
- Gouletquer, P. et Le Moine, O. (2002) "Shellfish farming and Coastal Zone Management (CZM) development in the Marennes-Oleron Bay and Charentais Sounds (Charente Maritime, France): a review of recent developments." *Aquaculture International*. **10**: 507-525.
- Graham, J. B. (1997) *Air-breathing fish: evolution, diversity and adaptation*. San Diego, California, Academic Press, Inc., 299 p.
- Gray, I. E. (1954) "Comparative study of the gill area of marine fishes." *Biological Bulletin*. **107**: 219-225.
- Gray, J. S., Wu, R. S. S. et Or, Y. Y. (2002) "Effects of hypoxia and organic enrichment on the coastal marine environment." *Marine Ecology Progress Series*. **238**: 249-279.

Guarini, J.-M., Blanchard, G., Bacher, C., Gros, P., Riera, P., Richard, P., Gouleau, D., Galois, R., Prou, J. et Sauriau, P.-G. (1998) "Dynamics of spatial patterns of microphytobenthic biomass: interferences from geostatistical analysis of two comprehensive surveys in Marennes-Oléron Bay (France)." *Marine Ecology Progress Series*. **166**: 131-141.

H

Hartstein, N. D. et Rowden, A. A. (2004) "Effect of biodeposits from mussel culture on macroinvertebrate assemblages at sites of different hydrodynamic regime." *Marine Environmental Research*. **57**: 339-357.

Holeton, G. F. (1980) Oxygen as an environmental factor in fishes. In *Environmental Physiology of Fishes*. Ali, M. A. (ed.) Plenum Publishing Corporation, New York. p 7-32.

Holeton, G. F. et Randall, D. J. (1967) "Changes in Blood Pressure in the Rainbow Trout During Hypoxia." *Journal of Experimental Biology*. **46**: 297-305.

Howell, B. R. (1997) "A re-appraisal of the potential of the sole, *Solea solea* (L.), for commercial cultivation." *Aquaculture*. **155**: 355-365.

Hughes, G. M. (1960a) "A comparative study of gill ventilation in marine teleosts." *Journal of Experimental Biology*. **37**: 28-45.

Hughes, G. M. (1960b) "The mechanism of gill ventilation in the dogfish and skate." *Journal of Experimental Biology*. **37**: 11-27.

Hughes, G. M. (1966) "The dimensions of fish gills in relation to their function." *Journal of Experimental Biology*. **45**: 177-195.

Hughes, G. M. (1972) "Morphometrics of fish gills." *Respiration Physiology*. **14**: 1-25.

Hughes, G. M. (1984) General anatomy of the gills. In *Fish physiology*. Randall, D. J. (ed.) **X, Gills - Part A, Anatomy, gas transfert and acid-base regulation** Academic Press, p 1-72.

Hughes, G. M. et Ballintijn, C. M. (1965) "The muscular basis of the respiratory pumps in the Dogfish (*Scyliorhinus canicula*)." *Journal of Experimental Biology*. **43**: 363-383.

Hughes, G. M. et Shelton, G. (1958) "The mechanism of gill ventilation in three freshwater teleosts." *Journal of Experimental Biology*. **35**: 807-823.

J

- Jenkinson, I. (1986) "Oceanographic implications of non-newtonian properties found in phytoplankton cultures." *Nature*. **323**: 435-437.
- Jenkinson, I. et Arzul, G. (1998). Effect of the flagellates *Gymnodinium mikimotoi*, *Heterosigma akashiwo* and *Pavlova lutheri* on flow through fish gills. 8th International Conference on Harmful Algae, Vigo, Spain. *Xunta de Galicia, Pontevedro and Intergovernmental Oceanographic Commission of Unesco* 425-428.
- Jenkinson, I. et Arzul, G. (2002) Mitigation by cysteine compounds of rheotoxicity, cytotoxicity and fish mortality caused by the dinoflagellates, *Gymnodinium mikimotoi* and *G. cf. maguelonnense*. In *Harmful Algal Blooms 2000*. Lewis, R. J. (ed.) IOC of UNESCO, Paris. p 461-464.
- Jenkinson, I. et Biddanda, B. (1995) "Bulk-phase viscoelastic properties of seawater: relationship with plankton components." *Journal of Plankton Research*. **17**: 2251-2274.
- Jenkinson, I., Claireaux, G. et Gentien, P. (2007) "Biorheological properties of intertidal organic fluff on mud flats and its modification of gill ventilation in buried sole *Solea solea*." *Marine Biology*. **150**: 471-485.
- Jensen, F. B., Nikinmaa, M. et Weber, R. E. (1993) Environmental perturbations of oxygen transport in teleost fishes: causes, consequences and compensations. In *Fish ecophysiology*. Jensen, F. B. (ed.) Fish and Fisheries **9** Chapman & Hall, London. p 161-179.
- Jobling, M. et Davies, P. S. (1980) "Effects of feeding on metabolic rate and the Specific Dynamic Action in plaice, *Pleuronectes platessa* L." *Journal of Fish Biology*. **16**: 629-638.
- Jones, R. et Hislop, J. R. G. (1978) "Further observations on the relation between food intake and growth of gadoids in captivity." *Journal du conseil International pour l'Exploration de la Mer*. **38**: 244-251.
- Jordan, A. D. et Steffensen, J. F. (2007) "Effects of ration size and hypoxia on specific dynamic action in the cod." *Physiological and Biochemical Zoology*. **80**: 178-185.
- Jørgensen, C. B. (1990) *Bivalve filter feeding : hydrodynamics, bioenergenics, physiology and ecology*. Fredensborg, Denmark, Olsen & Olsen, 140 p.

K

- Kaiser, M. J. (2001) Ecological effects of shellfish cultivation. In *Environmental impacts of aquaculture*. Black, K. D. (ed.) Sheffield Academic Press Ltd, Sheffield, UK. p 51-75.
- Kalinin, A. L., Severi, W., Guerra, C. D. R., Costa, M. J. et Rantin, F. T. (2000) "Ventilatory flow relative to intrabuccal and intraopercular volumes in the Serrasalmid fish *Piaractus mesopotamicus* during normoxia and exposed to graded hypoxia." *Revista Brasileira de Biologia*. **60**: 249-254.
- Karamushko, L. I. (1993) "Effect of feeding on metabolic rate and Specific Dynamic Action in *Gadus morhua morhua*, *Anarhichas lupus* and *Pleuronectes platessa*." *Journal of Ichthyology*. **33**: 148-158.
- Koenker, R. et Bassett, G. (1978) "Regression quantiles." *Econometrica*. **46**: 33-50.
- Koustikopoulos, C., Fortier, L. et Gagné, J. A. (1991) "Cross-shelf dispersion of Dover sole (*Solea solea*) eggs and larvae in Biscay Bay and recruitment to inshore nurseries." *Journal of Plankton Research*. **13**: 923-945.
- Kramer, D. L. (1983a) "Aquatic surface respiration in the fishes of Panama: distribution in relation to risk of hypoxia." *Environmental Biology of Fishes*. **8**: 49-54.
- Kramer, D. L. (1983b) "The evolutionary ecology of respiratory mode in fishes: an analysis based on the costs of breathing." *Environmental Biology of Fishes*. **9**: 145-158.
- Kramer, D. L. (1987) "Dissolved oxygen and fish behavior." *Environmental Biology of Fishes*. **18**: 81-92.

L

- Laffargue, P. (2004) Interactions entre comportement et variations de la croissance des juvéniles de la sole (*Solea solea*) dans les nourriceries des pertuis Charentais. UFR Sciences et Techniques, La Rochelle. pp 193.
- Lagardère, F., Amara, R. et Joassard, L. (1999) "Vertical distribution and feeding activity of metamorphosing sole, *Solea solea*, before immigration to the bay of Vilaine nursery (northern bay of Biscay, France)." *Environmental Biology of Fishes*. **56**: 213-228.
- Lai, J. C. C., Kakuta, I., Mok, H. O. L., Rummer, J. L. et Randall, D. J. (2006) "Effects of moderate and substantial hypoxia on erythropoietin levels in rainbow trout kidney and spleen." *Journal of Experimental Biology*. **209**: 2734-2738.
- Le Hir, P., Robert, S., Chaumillon, E. et Walker, P. (2005) Etude pour la gestion dynamique des sédiments sur les côtes du bassin de Marennes-Oléron et le pertuis de Maumusson.

Lot 4: Mesures et analyses - Conchyliculture / envasements / sables. Rapport préliminaire (phase 1) *IFREMER - CREOCEAN - CLDG*, 10 août 2005, La Rochelle. pp 17

- Le Pape, O. (2003) "Quantitative description of habitat suitability for the juvenile common sole (*Solea solea*, L.) in the Bay of Biscay (France) and the contribution of different habitats to the adult population." *Journal of Sea Research*. **50**: 139-149.
- Lefrançois, C. et Claireaux, G. (2003) "Influence of ambient oxygenation and temperature on metabolic scope and scope for heart rate in the common sole *Solea solea*." *Marine Ecology Progress Series*. **259**: 273-284.
- Lefrançois, C. et Domenici, P. (2006) "Locomotor kinematics and behaviour in the escape response of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., exposed to hypoxia." *Marine Biology*. **149**: 969-977.
- Leguerrier, D., Niquil, N., Boileau, N., Rzeznik, J., Sauriau, P.-G., Le Moine, O. et Bacher, C. (2003) "Numerical analysis of the food web of an intertidal mudflat ecosystem on the Atlantic coast of France." *Marine Ecology Progress Series*. **273**: 147-162.
- Lyndon, A. R., Houlihan, D. F. et Hall, S. J. (1992) "The effect of short-term fasting and a single meal on protein synthesis and oxygen consumption in cod, *Gadus morhua*." *Journal of Comparative Physiology B*. **162**: 209-215.

M

- MacCormack, T. J., McKinley, R. S., Roubach, R., Almeida-Val, V. M. F., Val, A. L. et Driedzic, W. R. (2003) "Changes in ventilation, metabolism, and behaviour, but not bradycardia, contribute to hypoxia survival in two species of Amazonian armoured catfish." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. **81**: 272-280.
- Machida, Y. (1981) "Study of specific dynamic action on some freshwater fishes." *Reports of the Usa Marine Biology Institute*. **3**: 1-50.
- Malet, N. (2005) *Ecologie alimentaire de l'huître Crassostrea gigas : dynamique des compositions isotopiques naturelles*. Université des Sciences, La Rochelle. pp 245.
- Mallekh, R. et Lagardère, J.-P. (2002) "Effect of temperature and dissolved oxygen concentration on the metabolic rate of turbot and the relationship between metabolic scope and feeding demand." *Journal of Fish Biology*. **60**: 1105-1115.
- Massel, S. R. (1999) *Fluid mechanics for marine ecologists*. Berlin, Germany, Springer, 566 p.
- Maxime, V., Pichavant, K., Boeuf, G. et Nonnotte, G. (2000) "Effects of hypoxia on respiratory physiology of turbot, *Scophthalmus maximus*." *Fish physiology and Biochemistry*. **21**: 51-59.

- McCue, M. D. (2006) "Specific dynamic action: a century of investigation." *Journal of Comparative Physiology A*. **144**: 381-394.
- McCue, M. D., Bennett, A. F. et Hicks, J. W. (2005) "The effect of meal composition on specific dynamic action in Burnese pythons (*Python molurus*)." *Physiological and Biochemical Zoology*. **78**: 182-192.
- McNatt, R. A. et Rice, J. A. (2004) "Hypoxia-induced growth rate reduction in two juvenile estuary-dependent fishes." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **311**: 147-156.
- Metcalfe, N. B. et Butler, P. J. (1984) "Changes in activity and ventilation in response to hypoxia in unrestrained, unoperated dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.)." *Journal of Experimental Biology*. **108**: 411-418.
- Mezger, T. G. (2002) *The rheology handbook*. Hannover, Vincentz Network GmbH & Co KG, 299 p.
- Miller, J. M., Burke, J. S. et Fitzhugh, G. R. (1991) "Early life history patterns of atlantic north american flatfish: likely (and unlikely) factors controlling recruitment." *Netherlands Journal of Sea Research*. **27**: 261-275.
- Miyake, Y. et Koizumi, M. (1948) "The measurement of the viscosity coefficient of sea water." *Journal of Marine Research*. **7**: 63-66.

N

- Nonnotte, G. et Kirsch, R. (1978) "Cutaneous respiration in seven sea-water teleosts." *Respiration Physiology*. **35**: 111-118.

O

- OFIMER (2006) Bilan annuel de production 2005 des pêches et de l'aquaculture. *OFIMER, Division Observatoire Economique Entreprise/DPMA - BCS*, Paris. pp 83
- Osse, J. W. M. et Van den Boogaart, J. G. M. (1997) "Size of flatfish larvae at transformation, functional demands and historical constraints." *Journal of Sea Research*. **37**: 229-239.
- Osse, J. W. M. et Van den Boogaart, J. G. M. (1999) "Dynamic morphology of fish larvae, structural implications of friction forces in swimming, feeding and ventilation." *Journal of Sea Research*. **55**: 156-174.

P

- Parker, G. A. (1992) "The evolution of sexual dimorphism in fish." *Journal of Fish Biology*. **41**: 1-20.
- Parker, J. G. (1983) "A comparison of methods used for the measurement of organic matter in marine sediment." *Chemistry in Ecology*. **1**: 201-210.
- Pedersen, C. L. (1987) "Energy budgets for juvenile rainbow trout at various oxygen concentrations." *Aquaculture*. **62**: 289-298.
- Perry, S. F. et Laurent, P. (1993) Environmental effects on fish gill structure and function. In *Fish ecophysiology*. Jensen, F. B. (ed.) Fish and Fisheries **9** Chapman & Hall, London. p 231-264.
- Persaud, D. I., Ramnarine, I. W. et Agard, J. B. R. (2006) "Ontogeny of the alimentary canal and respiratory physiology of larval *Hoplosternum littorale* (Hancock, 1828): an intestinal air-breathing teleost." *Environmental Biology of Fishes*. **76**: 37-45.
- Person-Le Ruyet, J., Lacut, A., Le Bayon, N., Le Roux, A., Pichavant, K. et Quéméner, L. (2003) "Effects of repeated hypoxic shocks on growth and metabolism of turbot juveniles." *Aquatic Living Resources*. **16**: 25-34.
- Petersen, J. K., Bougrier, S., Smaal, A. C., Garen, P., Robert, S., Larsen, J. E. N. et Brummelhuis, E. (2004) "Intercalibration of mussel *Mytilus edulis* clearance rate measurements." *Marine Ecology Progress Series*. **267**: 187-194.
- Pichavant, K., Maxime, V., Thébault, M. T., Ollivier, H., Garnier, J. P., Bousquet, B., Diouris, M., Boeuf, G. et Nonnotte, G. (2002) "Effects of hypoxia and subsequent recovery on turbot *Scophthalmus maximus*: hormonal changes and anaerobic metabolism." *Marine Ecology Progress Series*. **225**: 275-285.
- Pichavant, K., Person-Le-Ruyet, J., Le Bayon, N., Sévère, A., Le Roux, A., Quéméner, L., Maxime, V., Nonnotte, G. et Boeuf, G. (2000) "Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot." *Aquaculture*. **188**: 103-114.
- Pihl, L., Baden, S. P. et Diaz, R. J. (1991) "Effects of periodic hypoxia on distribution of demersal fish and crustaceans." *Marine Biology*. **108**: 349-360.
- Plante, S., Chabot, D. et Dutil, J.-D. (1998) "Hypoxia tolerance in Atlantic cod." *Journal of Fish Biology*. **53**: 1342-1356.
- Pörtner, H. O., Langenbuch, M. et Michaelidis, B. (2005) "Synergistic effects of temperature extremes, hypoxia, and increases in CO₂ on marine animals: from Earth history to global change." *Journal of Geophysical Research*. **110**: C09S10.
- Powers, S. P., Peterson, C. H., Christian, R. R., Sullivan, E., Powers, M. J., Bishop, M. J. et Buzzelli, C. P. (2005) "Effects of eutrophication on bottom habitat and prey resources of demersal fishes." *Marine Ecology Progress Series*. **302**: 233-243.

- Preide, I. G. (1977) "Natural selection for energetic efficiency and relationship between activity level and mortality." *Nature*. **267**: 610-612.
- Preide, I. G. et Holliday, F. G. T. (1980) "The use of new tilting tunnel respirometer to investigate some aspects of metabolism and swimming activity of the plaice (*Pleuronectes platessa* L.)." *Journal of Experimental Biology*. **85**: 295-309.
- Priede, I. G. (1985) Metabolic scope in fish. In *Fish energetics, new perspectives*. Calow, P. (ed.) The John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland. p 33-64.

R

- Ragnarsson, S. A. et Raffaelli, D. (1999) "Effects of the mussel *Mytilus edulis* L. on the invertebrate fauna of sediments." *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. **241**: 31-43.
- Randall, D. J. (1982) "The control of respiration and circulation in fish during exercise and hypoxia." *Journal of Experimental Biology*. **100**: 275-288.
- Revsbech, N. P. et Jørgensen, B. B. (1983) "Photosynthesis of benthic microflora measured with high spatial resolution by the oxygen microprofile method: capabilities and limitations of the method." *Limnology and Oceanography*. **28**: 749-756.
- Rezaul Karim, M., Sekine, M. et Ukita, M. (2003) "A model of fish preference and mortality under hypoxic water in the coastal environment." *Marine Pollution Bulletin*. **47**: 25-29.
- Roberts, J. L. (1975) "Active branchial and ram gill ventilation in fishes." *Biological Bulletin*. **148**: 85-105.
- Rogers, S. I. (1992) "Environmental factors affecting the distribution of sole (*Solea solea* (L.)) within a nursery area." *Netherlands Journal of Sea Research*. **29**: 153-161.

S

- Schlichting, H. (1987) *Boundary-layer theory*. New York, USA, McGraw-Hill, Inc., 817 p.
- Schmidt-Nielsen, K. (1998) *Physiologie animale - Adaptation et milieux de vie*. Paris, France, Dunod, 612 p.
- Schram, E., Veau der Heul, J. W., Kamstra, A. et Verdegem, M. C. J. (2006) "Stocking density-dependent growth of Dover sole (*Solea solea*)." *Aquaculture*. **252**: 339-347.

- Schurmann, H., Claireaux, G. et Chartois, H. (1998) "Changes in vertical distribution of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) during a hypoxic episode." *Hydrobiologia*. **371-372**: 207-213.
- Schurmann, H. et Steffensen, J. F. (1992) "Lethal oxygen levels at different temperatures and the preferred temperature during hypoxia of the Atlantic cod, *Gadus morhua* L." *Journal of Fish Biology*. **41**: 927-934.
- Shang, E. H. H., Yu, R. M. K. et Wu, R. S. S. (2006) "Hypoxia affects sex differentiation and development, leading to a male-dominated population in zebrafish (*Danio rerio*)." *Environmental Science & Technology*. **40**: 3118-3122.
- Shingles, A., McKenzie, D. J., Claireaux, G. et Domenici, P. (2005) "Reflex cardioventilatory responses to hypoxia in the flathead grey mullet (*Mugil cephalus*) and their behavioral modulation by perceived threat of predation and water turbidity." *Physiological and Biochemical Zoology*. **78**: 744-755.
- Shoji, J., Masuda, R., Yamashita, Y. et Tanaka, M. (2005a) "Effect of low dissolved oxygen concentrations on behavior and predation rates on red sea bream *Pagrus major* larvae by the jellyfish *Aurelia aurita* and by juvenile Spanish mackerel *Scomberomorus niphonius*." *Marine Biology*. **147**: 863-868.
- Shoji, J., Masuda, R., Yamashita, Y. et Tanaka, M. (2005b) "Predation on fish larvae by moon jellyfish *Aurelia aurita* under low dissolved oxygen concentrations." *Fisheries Science*. **71**: 758-753.
- Sloman, K. A., Wood, C. M., Scott, G. R., Wood, S., Kajimura, M., Johannsson, O. E., Almeida-Val, V. M. F. et Val, A. L. (2006) "Tribute to R. G. Boutilier: The effect of size on the physiological and behavioural responses of oscar, *Astronotus ocellatus*, to hypoxia." *Journal of Experimental Biology*. **209**: 1197-1205.
- Sogard, S. M. (1997) "Size-selective mortality in the juvenile stage of teleost fishes: a review." *Bulletin of Marine Science*. **60**: 1129-1157.
- Soivio, A., Nikinmaa, M. et Westman, K. (1980) "The blood oxygen binding properties of hypoxic *Salmo gairdneri*." *Journal of Comparative Physiology B*. **136**: 83-87.
- Soivio, A. et Tuurala, H. (1981) "Structural and circulatory responses to hypoxia in the secondary lamellae of *Salmo gairdneri* gills at two temperatures." *Journal of Comparative Physiology B*. **145**: 37-43.
- Sokal, R. R. et Rohlf, F. J. (1995) *Biometry : the principles and practice of statistics in biological research*. New York, USA, W.H. Freeman and Compagny, 887 p.
- Sollid, J., De Angelis, P., Gundersen, K. et Nilsson, G. E. (2003) "Hypoxia induces adaptive and reversible gross morphological changes in crucian carp gills." *Journal of Experimental Biology*. **206**: 3667-3673.
- Sornin, J.-M. (1983) "Effet des biodépôts de l'huître *Crassostrea gigas* (Thunberg) sur l'accumulation de matières organiques dans les parcs du bassin de Marennes-Oléron." *Journal of Molluscan Studies*. **12A**: 185-197.

- Sornin, J.-M., Feuillet, M., Héral, M. et Fardeau, J.-C. (1986) "Influence des cultures d'huîtres *Crassostrea gigas* sur le cycle du phosphore en zone intertidale : rôle de la biodéposition." *Oceanologica Acta*. **9**: 313-322.
- Steffensen, J. F., Bushnell, P. G. et Schurmann, H. (1994) "Oxygen consumption in four species of teleosts from Greenland: no evidence of metabolic cold adaptation." *Polar Biology*. **14**: 49-54.
- Stewart, N. E., Shumway, D. L. et Doudorff, P. (1967) "Influence of oxygen concentration on the growth of juvenile largemouth bass." *Journal of Fisheries Research Board of Canada*. **24**: 475-494.
- Stierhoff, K. L., Targett, T. E. et Miller, K. L. (2006) "Ecophysiological responses of juvenile summer and winter flounder to hypoxia: experimental and modeling analyses of effects on estuarine nursery quality." *Marine Ecology Progress Series*. **325**: 255-266.
- Stoner, A. W. et Abookire, A. A. (2002) "Sediment preferences and size-specific distribution of young of the year Pacific halibut in an Alaska nursery." *Journal of Fish Biology*. **61**: 540-559.

T

- Tetens, V. et Lykkeboe, G. (1981) "Blood respiratory properties of rainbow trout, *Salmo gairdneri*: Responses to hypoxia acclimation and anoxic incubation of blood in vitro." *Journal of Comparative Physiology B*. **145**: 117-125.
- Thetmeyer, H. W., U.; Black, K. D.; Inselmann, S.; Rosenthal, H. (1999) "Growth of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) under hypoxic and oscillating oxygen conditions." *Aquaculture*. **174**: 355-367.
- Thomas, P., Saydur Rahman, M., Kummer, J. A. et Lawson, S. (2006) "Reproductive endocrine dysfunction in Atlantic croaker exposed to hypoxia." *Marine Environmental Research*. **62**: S249-S252.
- Thorarensen, H. et Farrell, A. P. (2006) "Postprandial intestinal blood flow, metabolic rates, and exercise in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*)." *Physiological and Biochemical Zoology*. **79**: 688-694.

U

- Underwood, G. J. C. (1994) "Seasonal and spatial variation in epipelagic diatom assemblages in the Severn estuary." *Diatom Research*. **9**: 451-472.

Underwood, G. J. C. et Paterson, D. M. (1993) "Seasonal changes in diatom biomass, sediment stability and biogenic stabilization in the Severn estuary." *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. **73**: 871-887.

UNEP (2004) *GEO Year Book 2003*. New York, United Nations, 80 p.

V

Val, A. L., Lessard, J. et Randall, D. J. (1995) "Effects of hypoxia on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): intraerythrocytic phosphates." *Journal of Experimental Biology*. **198**: 305-310.

Van den Thillart, G., Dalla Via, J., Vitali, G. et Cortesi, P. (1994) "Influence of long-term hypoxia exposure on the energy metabolism of *Solea solea*. 1. Critical O₂ levels for aerobic and anaerobic metabolism." *Marine Ecology Progress Series*. **104**: 109-117.

Verger, F. (1968) Marais et wadden du littoral français. Etude de géomorphologie. Thèse de Doctorat, University of Bordeaux I, Biscaye Frères imprimeurs. pp 544.

Volkoff, H. (2006) "The role of neuropeptide Y, orexins, cocaine and amphetamine-related transcript, cholecystokinin, amylin and leptin in the regulation of feeding in fish." *Comparative Biochemistry and Physiology*. **144A**: 325-331.

Vouvé, F. (2000) Régénération benthique dans les vasières intertidales de Marennes-Oléron : nature de la matière organique, son impact sur la production et l'incorporation de l'ammonium. Doctorat, Faculté des Sciences Exactes et Expérimentales, Perpignan. pp 263.

W

Webb, P. W. (1988) "Simple physical principles and vertebrate aquatic locomotion." *American Zoologist*. **28**: 709-725.

Wilhelm Filho, D., Torres, M. A., Zaniboni-Filho, E. et Pedrosa, R. C. (2005) "Effect of different oxygen tensions on weight gain, feed conversion, and antioxidant status in piapara, *Leporinus elongatus* (Valenciennes, 1847)." *Aquaculture*. **244**: 349-357.

Wilson, R. S., Kuchel, L. J., Franklin, C. E. et Davison, W. (2002) "Turning up the heat on subzero fish: thermal dependence of sustained swimming in an Antarctic notothenioid." *Journal of Thermal Biology*. **27**: 381-386.

Wotton, R. S. et Gordon, J. D. M. (2005) "The essential of exopolymers (EPS) in aquatic systems." *Oceanography Marine Biology: An Annual Review*. **42**: 57-94.

Wu, R. S. S. (2002) "Hypoxia: from molecular responses to ecosystem responses." *Marine Pollution Bulletin*. **45**: 35-45.

Z

Zhu, X., Cui, Y., Ali, M. et Wootton, R. J. (2001) "Comparison of compensatory growth responses of juvenile three-spined stickleback and minnow following similar food deprivation." *Journal of Fish Biology*. **58**: 1149-1165.

Effets des caractéristiques physico-chimiques et biorhéologiques de l'eau sur la physiologie, les performances adaptatives et la sélection d'habitat chez la sole commune *Solea solea* (Linnaeus, 1758)

Résumé

La conchyliculture conduit à l'accumulation d'exopolysaccharides (EPS) à l'interface eau-sédiment. Les EPS ont des effets rhéologiques avérés et sont de nature à affecter le travail ventilatoire des jeunes poissons qui colonisent les vasières intertidales. L'objectif de l'étude était d'évaluer l'effet des EPS sur les performances physiologiques et comportementales de la sole commune *Solea solea*. Une détresse ventilatoire est observée à partir de 4 mgEPS l⁻¹, or sur le terrain, la concentration en EPS de l'eau peut atteindre 15 mg l⁻¹. L'intensité de la contrainte diminue avec la taille des animaux. Une comparaison inter-spécifique montre que les espèces ayant une grande surface branchiale (plie, turbot) sont plus sensibles à l'augmentation de la viscosité de l'eau que les espèces à faible surface branchiale (sole, solenette). Ni le taux métabolique basal ni la tolérance à l'hypoxie ne sont affectés par la teneur en EPS de l'eau. La teneur en oxygène de l'eau est un élément limitant majeur de la croissance de la sole. A 30 % de saturation on observe une réduction de 60 % du registre métabolique aérobie. Cette diminution s'accompagne de modifications du processus digestif, avec une hausse significative de sa durée et de la quantité totale d'énergie mobilisée (SDA). L'effet conjugué de l'hypoxie et des EPS sur la sélection d'habitat est surprenant. En condition normoxique, les soles colonisent préférentiellement un milieu sans EPS. Cependant, en hypoxie, les soles occupent les milieux riches en EPS alors qu'elles cumulent les effets d'une baisse de disponibilité en oxygène et d'une augmentation du travail ventilatoire. Des hypothèses sont proposées pour expliquer ce résultat

Effects of physical, chemical and biorheological characteristics of water on physiology, adaptive performance and habitat selection in the common sole *Solea solea* (Linnaeus, 1758)

Abstract

Shellfish culture can lead to an accumulation of exopolysaccharides (EPS) over the surface of intertidal mudflats. EPS are rheologically active polymers that change water viscosity and water flow over the branchial basket of the juvenile flatfish that colonise intertidal mudflats. The aim of this study was to assess the impact of water EPS content on various aspects of the physiology and behaviour of the common sole *Solea solea*. Field studies revealed that water total EPS can be up to 15 mg l⁻¹ in the field. In sole juveniles (aged class 0+) ventilatory distress was observed at concentrations above 4 mg l⁻¹, and the intensity of the constraint decreased with fish size. Nonetheless, neither standard metabolic rate nor tolerance of hypoxia were influenced significantly by water EPS content. An inter-specific comparison demonstrated species-specific differences in sensitivity to water viscosity, which may reflect gill surface area because species with high surface areas (plaice, turbot) were more sensitive to than species with low surface areas (sole, solenette). Water O₂ concentration was a major limiting factor for sole growth. At 30 % air saturation, sole aerobic scope was reduced by 60 % and this was associated with a significant increase of both duration and the whole energy spend on digesting and assimilating food (SDA). The combined effects of hypoxia and EPS on behavioural habitat selection were surprising. In normoxia, sole preferentially settled on an EPS-free substratum. In hypoxia the sole settled on an EPS-rich substratum, despite the evidence that this was associated with an increased ventilatory workload. Hypotheses were proposed to discuss this point.