

Otolithes et bioindication : conséquence d'un stress environnemental sur la morphologie des sagittae de Dicentrarchus labrax et Oblada melanura

Pierre Vandenbussche

▶ **To cite this version:**

Pierre Vandenbussche. Otolithes et bioindication : conséquence d'un stress environnemental sur la morphologie des sagittae de Dicentrarchus labrax et Oblada melanura. Ecologie, Environnement. COMUE Université Côte d'Azur (2015 - 2019), 2017. Français. NNT : 2017AZUR4122 . tel-01756164

HAL Id: tel-01756164
https://theses.hal.science/tel-01756164

Submitted on 1 Apr 2018

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

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

École doctorale Sciences Fondamentales et Appliquées

Unité de recherche : Ecosystèmes Côtiers Marins et Réponses aux Stress, FRE 3729 (CNRS – UNS)

Thèse de doctorat

Présentée en vue de l'obtention du grade de docteur

en

Sciences de l'Environnement

de

Université Côte d'Azur

par

Pierre Vandenbussche

Otolithes et bioindication : conséquence d'un stress environnemental sur la morphologie des *sagittae* de *Dicentrarchus labrax* et *Oblada melanura*

Dirigée par Patricia Pierson

Soutenue le 11 décembre 2017 devant le jury composé de :

Vincent DEBAT	Dr. HDR, Institut de Systématique, Evolution et Biodiversité	Rapporteur
Beatriz MORALES-NIN	Pr., Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados	Rapporteur
Denis ALLEMAND	Pr., Centre Scientifique de Monaco	Examinateur
Paolo GUIDETTI	Pr., Ecosystèmes Côtiers Marins et Réponses aux Stress	Examinateur
Patricia PIERSON	Dr. HDR, Ecosystèmes Côtiers Marins et Réponses aux Stress	Directeur de thèse

Résumé

En tant qu'interface entre milieux marin et terrestre, les côtes présentent une large variété d'écosystèmes. En plus de son importance écologique, cette interface présente une forte attraction pour l'être humain et ses activités. En conséquence, le suivi des impacts anthropiques sur les environnements côtiers, à l'aide d'indicateurs sensibles, est une nécessité. Dans ce contexte, cette étude avait pour but de valider un indicateur de la qualité de l'environnement, parmi trois approches : des mesures morphologiques de juvéniles de poissons ; la quantification de l'asymétrie fluctuante de leurs otolithes ; l'analyse de la forme de leurs otolithes.

Les résultats obtenus *in aquaria* ont montré, pour *Dicentrarchus labrax,* une absence d'effet de mono-contaminations à l'aide de polluants classiques comme le phosphore ou le zinc, à des concentrations correspondant à celles *in situ* dans des zones fortement anthropisées. Des concentrations plus élevées de zinc ont toutefois induit une modification de la forme des otolithes en plus d'un effet négatif sur la taille et le poids.

Grâce à nos campagnes de prélèvement *in situ* de juvéniles d'*Oblada melanura,* réalisées sur trois ans, nous avons démontré de manière reproductible que, comparativement à des sites préservés et des arrivées de petits cours d'eau, des ports de plaisance de taille moyenne ont un effet négatif sur la longueur standard des juvéniles et induisent une modification de la forme de leurs otolithes. En regard des résultats *in aquaria*, ces modifications vont dans le sens d'une synergie des sources de perturbations qui prises indépendamment ne produiraient pas d'effet.

De l'ensemble de nos résultats nous pouvons déduire que les tailles et poids sont facilement mesurables mais présentent des variabilités dans leurs réponses. La mesure de l'asymétrie des otolithes de juvéniles ne semble pas adaptée à une utilisation en bioindication. Au contraire, l'analyse de formes des *sagittae* de juvéniles est bien adaptée pour suivre des modifications de l'environnement pour des poissons de deux familles différentes, Moronidés et Sparidés. Cette analyse semble un outil prometteur en bioindication, applicable pour les gestionnaires de l'environnement.

Abstract

As an interface between ground and marine environments, coasts present a wide variety of ecosystems. In addition to its ecological importance, this interface represents a strong attraction for humans and their activities. As a consequence, a survey of anthropic impacts on coastal environments, through the use of sensitive indicators, is of major interest. In this context, the aim of this study was to validate the most suitable environmental indicator among three approaches: morphological measurements of fish juveniles; quantification of the fluctuating asymmetry of their otoliths; analysis of their otolith shape.

In aquaria, results for *Dicentrarchus labrax* have shown that mono-contamination by classical pollutants, such as phosphorus or zinc, has no effect for concentrations corresponding to those measured in highly anthropized environments. Nevertheless, higher zinc concentrations induce otolith shape alterations in addition to their negative impact on fish size and weight.

On the basis of our three-year *in situ Oblada melanura* samplings, we have demonstrated that, in a replicable manner, compared to preserved areas and small waterway mouths, mid-size recreational harbours negatively impact juvenile standard length and also alter otolith shape. By comparison with *in aquaria* results, these alterations are consistent with a synergy of disturbance sources which taken independently do not have any impact.

Taking into account all our results, we deduce that size and weight are easy to measure but show response variability. Measurement of fish juvenile otoliths' fluctuating asymmetry does not seem to be suitable for use in bioindication. Conversely, fish juvenile *sagittae* shape analysis is well-suited to surveys of environmental modifications, for fishes from two different families, Moronidae and Sparidae. This analysis seems to be a promising tool for bioindication, with a practical application for environmental managers.

Table des matières

Résumé i
Abstract ii
Table des matières iii
Tables des illustrations vii
Figures vii
Tables x
Remerciements xiii
Chapitre 1 - Introduction générale 1
I - Contexte 2
II - Généralités 8
II.A - Le stress 8
II.B - La fitness 10
II.C - Le développement 10
II.D - La symétrie 13
II.E - Les asymétries 14
II.E.1 - L'asymétrie directionnelle 14
II.E.2 - Les asymétries non directionnelles 15
II.F - Les otolithes 17
Chapitre 2 - In aquaria 21
I - Introduction 22
II - Méthodes 23
II.A - Matériel vivant 23
II.B - Composés d'intérêt à tester et leurs gammes de concentrations 26
II.B.1 - Phosphate 26
II.B.2 - Zinc 27
II.B.3 - Témoins 29
II.C - Conditions expérimentales 30
II.C.1 - Livraison 30
II.C.2 - Acclimatation 30
II.C.3 - Préparation des aquariums 30
II.C.4 - Euthanasie des poissons 32
II.D - Traitement des échantillons 33
II.D.1 - Préparation et stockage 33
II.D.2 - Dissection 35
II.D.3 - Prises de vue 37
II.E - Analyse des échantillons 40
II.E.1 - Morphologie des individus 40
II.E.2 - Préparation des images avant leur analyse 42
II.E.3 - Traitement d'images 44
II.F - Etude de l'asymétrie fluctuante 48
II.F.1 - Pré-requis à l'étude de l'asymétrie fluctuante 48

II.F.2 - Analyse de l'asymétrie fluctuante 57
II.G - Etude de la forme 58
II.G.1 - Principe de l'analyse elliptique de Fourier 59
II.G.2 - Analyse statistique de ces données 63
III - Expérimentation 65
III.A - Phosphate, test de différentes concentrations 65
III.A.1 - Mortalité 66
III.A.2 - Morphologie des individus 67
III.A.3 - Analyses de l'asymétrie 68
III.A.4 - Analyse de formes 69
III.A.5 - Interprétation de ces résultats 73
III.B - Zinc, test de différentes concentrations 75
III.B.1 - Essai de gamme et de pic de concentration 75
III.B.2 - Gamme de concentrations 80
III.B.3 - Validation de la gamme de concentrations 87
IV - Conclusions 97
IV.A - Maintien en aquarium 97
IV.B - Effets des substances chimiques testées 97
IV.C - Bilan sur nos méthodes de quantification des effets 98
Chapitre 3 - *In situ* 103
I - Introduction 104
II - Méthodes 106
II.A - Matériel vivant 106
II.B - Caractéristiques des stations d'échantillonnage 108
II.B.1 - Types de site d'intérêt 108
II.B.2 - Zones géographiques d'intérêt 109
II.B.3 - Les sites choisis 110
II.C - Techniques de prélèvement des oblades 112
II.C.1 - Prélèvements passifs 112
II.C.2 - Prélèvements actifs 113
II.C.3 - Prélèvements d'eau 115
II.D - Traitement et analyses des échantillons 116
II.D.1 - Conditionnement sur le terrain 116
II.D.2 - Stockage au laboratoire 116
III - Expérimentations 118
III.A - Échantillonnage 118
III.B - Asymétrie fluctuante 119
III.B.1 - Influence de la durée de résidence sur un site 119
III.B.2 - Etude de l'ensemble des poissons sélectionnés ; variations inter-annuelles 126
III.B.3 - Influence de l'environnement 133
III.C - Analyse de Forme 145
III.C.1 - Validation de l'analyse de forme des *sagittae* comme indicateur 145
III.C.2 - Influence de l'environnement 160
IV - Conclusion 174

Chapitre 4 - Discussion et perspectives 179
Bibliographie 187
Annexes I
Annexe I : Composition du sel *Instant Ocean* II
Annexe II : Efficacité de filtration (fiche fabricant) III
Annexe III : Evolution des conditions expérimentales IV
Infrastructure IV
Installations successives IV
Installation initiale IV
Installation avec alimentation en eau en continu V
Installation avec alimentation en eau à faible débit VII
Annexe IV : Script de mesure automatisée sous ImageJ X
Annexe V : Expérimentations *in aquaria* complémentaires XII
Croissance XII
Mortalité XII
Morphologie des individus XII
Analyses de l'asymétrie XIV
Interprétation de ces résultats XV
Faisabilité de tests de polluants XVI
Cuivre XVI
Déroulement de l'expérimentation XVIII
Mortalité XIX
Morphologie des individus XX
Analyses de l'asymétrie XXI
Interprétation de ces résultats XXIII
Annexe VI : Résultats des analyses statistiques XXVI
Annexe VII : Analyses des échantillons d'eau prélevés *in situ* XXVII
2013 XXVIII
2014 XXIX
2015 XXXI
Interprétation de ces résultats XXXII
Annexe VIII: Supplementary data growth XXXIII
Publications
Publiées
Soumises
Résumé

Tables des illustrations

Figures

Figure 1-1 : Installations de lagunage d'une industrie textile (teinture), région Haut de France. 2

Figure 1-2 : Effluents d'une installation de plaquage métallique après floculation, région Haut de France. 3

Figure 1-3 : Installation de boues dites "activées", entreprise de production de jus de fruits, région Hauts de France. 3

Figure 2-1: Stades précoces de développement chez le poisson. 5

Figure 1-4 : Section d'un otolithe (*sagitta*) d'*Oblada melanura* faisant apparaitre les stries de croissance (x200). 6

Figure 1-5 : Trajectoires du développement dans différentes conditions de stabilité et de canalisation. 12

Figure 1-6: Répartitions hypothétiques des résultats du développement d'un caractère à symétrie bilatérale, pour différents niveaux de stabilité et de canalisation du développement de ce caractère. 13

Figure 1-7: Asymétrie directionnelle. 14

Figure 1-8 : Antisymétrie. 15

Figure 1-9 : Asymétrie fluctuante. 16

Figure 1-10 : Schéma théorique de l'appareil vestibulaire d'un poisson téléostéen. 17

Figure 1-11 : *Dicentrarchus labrax*, paire d'otolithes présentant une anomalie de cristallisation du $CaCO_3$. 18

Figure 1-12 : Schéma de l'innervation de la macula associée à un otolithe (*sagitta*) dans sa cavité vestibulaire. 18

Figure 1-13 : Eléments remarquables sur les *sagittae* droits de deux espèces différentes. 19

Figure 2-2 : Juvénile de *Dicentrarchus labrax.* 23

Figure 2-3 : Cycle de reproduction naturel de *Dicentrarchus labrax.* 24

Figure 2-4: Production aquacole mondiale (sauf Turquie) de *Dicentrarchus labrax* depuis 1970. 25

Figure 2-5 : Préparation d'un échantillon d'expérimentation *in aquaria* pour transport et conservation. 34

Figure 2-6 : Accès aux otolithes par dissection par la base du crâne. 36

Figure 2-7 : Photographie d'un *sagitta* droit de *Dicentrarchus labrax* avec artéfact lié à la résine et schéma explicatif. . 39

Figure 2-8 : Photographie d'une paire de *sagittae* de *Dicentrarchus labrax* âgé de 42 jours. 40

Figure 2-9 : Schéma présentant les deux longueurs utilisées pour mesurer les individus. 41

Figure 2-10 : Standardisation par repositionnement des otolithes *a posteriori* sur une photographie. 43

Figure 2-11 : Standardisation en pivotant les otolithes *a posteriori* sur une photographie. 43

Figure 2-12 : Standardisation par augmentation du contraste des otolithes *a posteriori* sur une photographie. 44

Figure 2-13 : Standardisation par retournement en miroir de l'otolithe gauche *a posteriori* sur une photographie. 44

Figure 2-14 : Représentation graphique des paramètres d'un otolithe mesurés sous ImageJ. 46

Figure 2-15 : Exemple de création d'une chaîne de codes à partir d'un contour d'objet en forme de cœur. 47

Figure 2-16 : Pré-traitements sous R à l'aide du package Momocs. 48

Figure 2-17 : Exemple de projection des valeurs d'un côté par rapport à celles de l'autre (unités arbitraires). 50

Figure 2-18 : Illustration du rôle de la profondeur de champ dans l'erreur de mesure. 51

Figure 2-19 : Influence de l'asymétrie directionnelle (AD) sur la mesure de l'asymétrie fluctuante (AF). 55

Figure 2-20 : Changements dans les projections *x*, *y* lors de la lecture d'une chaîne de codes. 60

Figure 2-21 : Reconstitution d'une forme complexeà l'aide d'un nombre limité d'harmoniques successives (de 1 à 9). . 62

Figure 2-22 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, variables morphologiques par traitement. 67

Figure 2-23 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, asymétrie absolue par paramètre. 68

Figure 2-24 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, CAP, comparaisons des bacs par concentration. 71

Figure 2-25 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, CAP, comparaisons des concentrations. 72

Figure 2-26 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, validation de la gamme de concentrations, superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes concentrations testées. 73

Figure 2-27 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, essai de gamme et de pic de concentration, variables morphologiques par traitement. 77

Figure 2-28 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, essai de gamme et de pic de concentration, asymétrie absolue par paramètre. 78

Figure 2-29 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, gamme de concentrations, variables morphologiques par traitement. 82

Figure 2-30 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, gamme de concentrations, asymétrie absolue par paramètre. 84

Figure 2-31 : *Dicentrarchus labra*x, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, variables morphologiques par traitement. 88

Figure 2-32 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, asymétrie absolue par paramètre. 90

Figure 2-34 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, résumé de la CAP. 93

Figure 2-35 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes concentrations testées. 95

Figure 3-1 : Juvéniles d'oblades (*Oblada melanura*) dans une boîte de Pétri de 10 cm de diamètre. 107

Figure 3-2 : *Oblada melanura*, reproduction et dispersion. 108

Figure 3-3 : Carte récapitulative des stations d'intérêt sélectionnées. 112

Figure 3-4: *Oblada melanura*, données de prélèvement lors des pêches effectuées en 2013, 2014 et 2015. 115

Figure 3-5 : Echantillon prélevé *in situ* préparé pour le stockage à -20 °C. 117

Figure 3-6 : Photographie d'une paire de *sagittae* d'un juvénile d'*Oblada melanura*. 118

Figure 3-7 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, variables morphologiques par prélèvement en 2013. 120

Figure 3-8 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre et par date de prélèvement en 2013. 121

Figure 3-9 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, variables morphologiques par prélèvement en 2014. 122

Figure 3-10 : Oblada melanura, influence de la durée de résidence sur un site, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par date de prélèvement et par site en 2014. 123

Figure 3-11 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, variables morphologiques par prélèvement et par site en 2015. 124

Figure 3-12 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par date de prélèvement et par site en 2015. 125

Figure 3-13 : *Oblada melanura*, LS moyennes (mm) des individus par catégorie. 126

Figure 3-14 : *Oblada melanura*, poids moyens (mg) des individus par catégorie. 127

Figure 3-15 : *Oblada melanura*, valeurs moyennes de l'indice corrigé d'asymétrie absolue par paramètre et par année. 132

Figure 3-16 : *Oblada melanura*, LS et poids moyens selon la zone ou le type d'origine en 2013. 134

Figure 3-17 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par zones ou par types en 2013. 135

Figure 3-18 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par sites, en 2013. 136

Figure 3-19 : *Oblada melanura*, tailles et poids moyens selon la zone ou le type d'origine en 2014. 137

Figure 3-20 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par zones ou par types en 2014. 139

Figure 3-21 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par sites, en 2014. 140

Figure 3-22 : *Oblada melanura*, LS et poids moyens selon la zone ou le type d'origine en 2015. 141

Figure 3-23 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par zones ou par types en 2015. ... 142

Figure 3-24 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par sites, en 2015. 143

Figure 3-25 : Photographie représentative de paires de *sagittae* d'*Oblada melanura* classées par ordre de taille des poissons (mm). 148

Figure 3-26 : *Oblada melanura*, ACP, projection des 597 individus groupés par longueurs standard (mm). 150

Figure 3-27 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les sites comme groupes *a priori*, par dates d'échantillonnage. 153

Figure 3-28 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les dates de prélèvement comme groupes *a priori*, par années. 155

Figure 3-29 : *Oblada melanura,* superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes dates de prélèvement. 155

Figure 3-30 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les années de prélèvement comme groupes *a priori*. 157

Figure 3-31 : *Oblada melanura,* superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes années de prélèvement. 157

Figure 3-32 : Carte représentant les principaux courants dans l'aire d'étude. 161

Figure 3-33 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des zones de prélèvement tous sites inclus, pour les années 2013 et 2015. 163

Figure 3-34 : *Oblada melanura,* superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes zones de prélèvement en 2013 et 2015. 163

Figure 3-35 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des types de sites toutes zones incluses, pour les années 2013 et 2015. 164

Figure 3-36 : *Oblada melanura,* superposition des contours moyens des otolithes pour les différents types de sites toutes zones incluses, pour les années 2013 et 2015. 165

Figure 3-37 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des zones par types de sites, pour les années 2013 et 2015. 166

Figure 3-38 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des types de sites par zones, pour les années 2013, 2014 et 2015. 169

Figure 3-39 : *Oblada melanura,* superposition des contours moyens des otolithes pour les différents types de sites par zones, pour les années 2013, 2014 et 2015. 170

Figure A-0-1 : Plan de la pièce d'expérimentation. IV

Figure A-0-2: Photographie de l'installation utilisée lors de la première expérimentation. IV

Figure A-0-3 : Installation expérimentale à renouvellement en eau en continu. V

Figure A-0-4 : Installations améliorée et finale. VIII

Figure A-0-5 : *Dicentrarchus labrax*, suivi de croissance, variables morphologiques par âges, de 42 à 52 jours. XIII

Figure A-0-6 : *Dicentrarchus labrax*, suivi de croissance, asymétrie absolue (indice FA1) par paramètre. XIV

Figure A-0-7 : *Dicentrarchus labrax*, essai de faisabilité, variables morphologiques par traitement. XX

Figure A-0-8 : *Dicentrarchus labrax*, essai de faisabilité, asymétrie absolue (FA1) par paramètre. XXII

Figure A-0-9 : *Oblada melanura*, ACP des données de concentrations des éléments mesurés en 2013. XXIX

Figure A-0-10 : *Oblada melanura*, ACP des données de concentrations des éléments mesurés en 2014. XXX

Figure A-0-11 : *Oblada melanura*, ACP des données de concentrations des éléments mesurés en 2015. XXXI

Tables

Table 2-1 : Exemples d'études ayant traité des concentrations de phosphore dissous en Méditerranée. 26

Table 2-2 : Liste d'études traitant du zinc dissous en Méditerranée. 28

Table 2-3 : Concentrations de zinc relâchées dans l'eau de mer par des peintures antifouling, mesurées par Karlsson et al. (Karlsson *et al.*, 2010) après 14 jours. 29

Table 2-4 : Comparaison de différentes techniques de conservation d'échantillons. 35

Table 2-5 : Informations d'orientation et de distance des valeurs des chaînes de codes. 47

Table 2-6 : ANOVA modèle mixte à deux facteurs, présentée par Palmer (Palmer, 1994). 52

Table 2-7 : Exemple de table de résultats d'une ANOVA modèle mixte à deux facteurs utilisée dans le cadre de la quantification de l'erreur de mesure lors d'une expérimentation portant sur l'asymétrie fluctuante. 53

Table 2-8 : Exemple de la forme de cœur, calibration du "*Harmonic Power*". 63

Table 2-9 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, suivi de mortalité. 66

Table 2-10 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, MANOVA, comparaisons des bacs par concentration. 69

Table 2-11 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, MANOVA, comparaisons des concentrations. ... 69

Table 2-12 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, CAP, comparaisons des bacs par concentration. 70

Table 2-13 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, CAP, comparaisons des concentrations. 72

Table 2-14 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, essai de gamme et de pic de concentration, suivi de mortalité. 76

Table 2-15 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, gamme de concentrations, suivi de mortalité. 81

Table 2-16 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, suivi de mortalité. 87

Table 2-17 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, comparaison des traitements par variables morphologiques, UN-HSD. 89

Table 2-18 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, résumé de la CAP. 93

Table 3-1 : Récapitulatif des coordonnées GPS des stations utilisables dans le cadre d'une étude sur l'influence de l'environnement immédiat sur le développement de post-larves et juvéniles d'*Oblada melanura.* 111

Table 3-2 : *Oblada melanura*, dates d'échantillonnage *in situ.* 118

Table 3-3 : *O. melanura*, effectif des échantillons utilisés. 119

Table 3-4 : *Oblada melanura*, individus prélevés utilisés pour l'étude de l'influence de la durée de résidence sur un site. 120

Table 3-5 : *Oblada melanura*, contrôle de l'erreur de mesure. 129

Table 3-6 : *Oblada melanura*, quantification de l'erreur de mesure pour les 6 paramètres mesurés. 129

Table 3-7 : *Oblada melanura*, corrélation entre la taille des individus et l'asymétrie des paramètres. 130

Table 3-8 : *Oblada melanura*, post-hoc de Tukey, AF entre années de prélèvement pour chacun des paramètres mesurés. Les niveaux de significativité p sont présentés. 132

Table 3-9 : Echantillons utilisés pour l'étude de l'influence de la croissance sur la forme de l'otolithe chez *O. melanura.* 147

Table 3-10: *Oblada melanura*, table de résultat d'ANOVA, LS et aire d'otolithes droits par dates d'échantillonnage et par années. 149

Table 3-11 : *Oblada melanura*, table de résultat d'ANOVA, LS et aire d'otolithes par types et par échantillonnages successifs chaque année. 149

Table 3-12 : *Oblada melanura*, table de résultat d'ACP réalisée sur les descripteurs de forme de l'ensemble des échantillons de 2013, 2014 et 2015. 150

Table 3-13: *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les sites comme groupes *a priori*, par dates d'échantillonnage. 152

Table 3-14 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les dates de prélèvement comme groupes *a priori*, par années. 154

Table 3-15 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les années de prélèvement comme groupes *a priori*..... 156

Table 3-16 : *Oblada melanura* collectées et ≥ 11 mm conservées pour l'étude de l'influence de l'environnement. 161

Table 3-17 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des zones de prélèvement tous sites inclus, pour les années 2013 et 2015. 162

Table 3-18 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des types de sites toutes zones incluses, pour les années 2013 et 2015. 163

Nous venons de démontrer que la forme des otolithes varie entre les zones ainsi qu'entre les types de sites lorsque tous les individus sont inclus. Ces résultats nous ont amené à vérifier si ces différences persistent entre les zones pour un type de site spécifique. Nous avons donc comparé pour chacun des types les différentes zones entre elles, pour les années 2013 et 2015, en utilisant les zones comme groupes *a priori* pour cette CAP (Table 3-19, Figure 3-36).Table 3-19 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des zones par types de sites, pour les années 2013 et 2015. 166

Table 3-20 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des types de sites par zones, pour les années 2013, 2014 et 2015. . 168

Table A-1 : *Dicentrarchus labrax*, suivi de croissance, suivi de mortalité. XII

Table A-2 : Liste d'études traitant du cuivre dissous en Méditerranée. XVIII

Table A-3 : Concentrations de cuivre relâchées dans l'eau de mer par des peintures antifouling, mesurées par Karlsson et al. (Karlsson *et al.*, 2010) après 14 jours. XVIII

Table A-4 : *Dicentrarchus labrax*, essai de faisabilité, suivi de mortalité. XIX

Table A-5 : *Oblada melanura*, ACP des concentrations en éléments mesurés, variance expliquée par les cinq premières PC. XXVIII

Table A-6 : Concentration des éléments mesurés dans les prélèvements d'eau de 2013. XXVIII

Table A-7 : Concentration des éléments mesurés dans les prélèvements d'eau de 2014. XXIX

Table A-8 : Concentration des éléments mesurés dans les prélèvements d'eau de 2015. XXXI

Remerciements

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué à la réussite de cette thèse.

En premier lieu, je tiens tout particulièrement à remercier ma directrice de thèse, Patricia Pierson. Je te remercie pour m'avoir guidé tout au long de cette thèse, pour tes conseils et critiques avisées, et surtout pour ton soutien tout au long de ce travail sur un sujet aussi nouveau pour toi que pour moi ! Merci pour la confiance que tu m'as accordé dès le début de cette thèse, souviens toi, lorsque faute de moyen nous étions amenés à "bricoler" nos installations pour les rendre fonctionnelles ! Merci à toi sans qui tout cela n'aurait pas été possible.

Estoy muy honorado contar la Profesora Beatriz Morales-Nin entre los miembros de mi jurado de defensa de tesis, y la agradezco que haya aceptado ser ponente.

Je suis très sensible à l'honneur que m'a fait le Docteur Vincent Debat en acceptant d'examiner ce mémoire et de participer à mon jury de thèse.

Je suis très reconnaissant au Professeur Denis Allemand d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse. Je tiens à lui exprimer ici tous mes remerciements.

Au Professeur Paolo Guidetti, qui a accepté de participer à ce jury de thèse, j'exprime mes sincères remerciements.

Je remercie le Professeur Patrice Francour, ancien directeur de la FRE3729 ECOMERS, et son successeur le Professeur Paolo Guidetti pour m'avoir accueilli au sein de leur laboratoire.

Je tiens aussi à remercier la Fondation UNICE, son président Jean-Christophe Boisse, sa directrice Valérie Hizebry, son chargé de communication et événementiel Vincent Tricard, son assistante administration et communication Charlotte Waltzer, pour le soutien apporté à ce travail. Je remercie tout particulièrement son ancienne directrice Caty Conraux qui a permis la création du projet SPICE dont fait partie cette thèse.

Merci Guillaume Spennato pour tout le temps que tu as passé sur ces petits loups et oblades, pour tes conseils, ton soutien et toute l'aide que tu as apportés. Sans toi tout cela n'aurait pas pu être possible.

Merci à tous les "ECOMERS", présents comme passés, oui vous aussi ! Merci à Pierre et Marianne, Adrien, Amalia, Fabrizio le grand, Fabrizio le petit, Guilia, Claudia, Emna, Daniela,

Elizabeth, Alexis, Sylvaine, Antonio, Simona, Virginie, Cécile, Laura, Natacha, Dominique, Jean-Michel, Jean et vu que je fais ça de tête et qu'il est tard je risque d'oublier du monde alors si vous ne vous trouvez pas je m'en excuse et vous prévois une ligne pour rajouter votre nom :

_____

Merci à tous les "stagiaires" et plus particulièrement Claire et Valentin, qui par leur travail et leur amitié ont permis l'avancement de cette thèse.

Merci à ceux que je ne sais plus situer >< en haut ? en bas ? ou l'inverse : Pauline et Raph, Alexis et Thamilla (et Yanis !) ainsi qu'Antonio et Patrícia ! Merci pour votre soutien et votre amitié !

Merci à tout SYMAR, Brigitte, Thamilla, Didier, Paola et Stéphanie pour leur conseils avisés et leur soutien ! Mais aussi et surtout pour leur énergie et leur enthousiasme communicatif !

Un grand merci aussi aux deux écureuils du 5ème, l'un passionné des outils et méthodes permettant de blesser, estropier, écharper, estourbir, assommer, percer, et autres joyeusetés, son prochain (mais sportivement), l'autre préférant la musique, et disposant *a priori* d'un orchestre personnel relié (par liaison satellite ?) directement à ses oreilles. Merci à vous deux pour tous ces moments que nous avons passés ensemble à Nice, Sète ou encore Arlon.

Merci aussi aux familles et parents des deux écureuils, Barbara et Cédric, pour leur écoute et tous les bons moments que nous avons pu passer ensemble.

Lionel et Géraldine, merci au duo des chimistes, pour leur amitié et pour avoir réussi l'exploit de me remettre à l'eau après presque 5 années sur la terre ferme ! Je vous souhaite le meilleur et espère, à l'heure où j'écris ces lignes que votre expérience d'union subaquatique, se soit déroulée sans encombre.

Gracias a Xisco, Patricia, Edurne, Carmen, Ariadna, Teresa, Sara así como todos los miembros del IEO de Palma, por vuestro consejo y vuestra amistad, sin vosotros probablemente no habría empezado ¡y terminado! este trabajo.

Anael et Vanessa (et Ulysse) ainsi que Simon et Amélie (et Alexandre), pour leur soutien, leur curiosité, parfois leur insistance à avoir leur message perso dans ces remerciements (tu l'as cherché Anael), mais surtout pour votre amitié sans faille depuis de nombreuses années qui a elle aussi joué un rôle dans la réussite de ce travail.

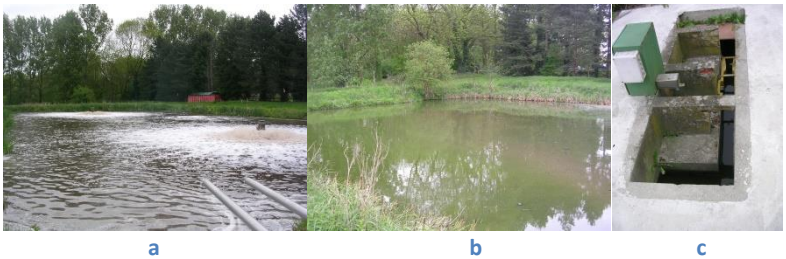
A ma famille et plus particulièrement mes parents et mes sœurs, je vous remercie de tout le soutien que vous m'avez depuis toujours apporté et sans lequel je ne serais pas en train d'écrire ces lignes aujourd'hui.

Chapitre 1 - Introduction générale

I - Contexte

De nos jours, prétendre que "les impacts environnementaux sont une préoccupation majeure" n'est pas perturbant pour la population générale. Le sens donné à cette phrase a cependant fortement évolué au cours des dernières années. Si initialement elle était comprise comme "impacts humains sur l'environnement" ou à l'inverse "impacts de l'environnement sur les humains", de nos jours ces deux notions tendent à fusionner en une seule. Ce nouveau sens sous la forme d'un cycle introduit l'humain comme une part de l'environnement qui subit l'influence de ses propres actions. De fait, l'expression "impacts environnementaux" peut alors être décrite comme "les impacts humains sur l'environnement ayant un impact sur l'Homme". Bien que ce changement considère toujours les intérêts de l'Homme comme centraux il a le mérite d'impliquer l'Homme et de lui faire prendre conscience des changements environnementaux définis par Ghislain de Marsily[1] et Jean-François Soussana[2] comme "*désormais clairement perceptibles à grande échelle, voire celle de la planète, d'où le terme souvent réduit au vocable de "Changements Globaux" ou "Changement Global"* (Vauclin *et al.*, 2013). Parallèlement à l'évolution de ces mentalités, un intérêt croissant pour les méthodes de quantification de ces impacts s'est développé.

De nombreuses méthodes de quantification des impacts environnementaux existent aujourd'hui, chacune adaptée au problème surveillé. Certaines fournissent une information en temps réel, comme dans le cas du suivi de l'ozone troposphérique (Vergé *et al.*, 2002; da Silveira Petruci *et al.*, 2013). D'autres utilisent des données ponctuelles comme dans le cas des échantillonnages d'eau d'effluents industriels comme la papeterie, le textile (Figure 1-1), le plaquage métallique (Figure 1-2) ou encore l'agroalimentaire (Figure 1-3).



a b c

Figure 1-1 : Installations de lagunage d'une industrie textile (teinture), région Haut de France.
a : bassin d'oxygénation ; b : bassin de décantation ; c : mesure de débit d'effluent (canal venturi) rejeté dans l'environnement (rivière).

[1] Président du CSS ANR « Sciences du Système Terre », Membre des Académies des Sciences, des Technologies, et d'Agriculture de France

[2] Président du CSS ANR « Écosystèmes et Développement Durable », Directeur scientifique environnement, INRA



Figure 1-2 : Effluents d'une installation de plaquage métallique après floculation, région Haut de France. Étape de floculation avant récupération du floculat et élimination du surnageant (égouts).



a b c

e f g

Figure 1-3 : Installation de boues dites "activées"[3], entreprise de production de jus de fruits, région Hauts de France. a : boue de décantation ; b : effluent homogénéisé observé à la loupe binoculaire ; c : bassin d'homogénéisation ; e, f, g : installation de lagunage à boues activées avant rejet dans l'environnement (rivière).

Les méthodes physiques ou chimiques de dosage sont actuellement courantes dans le cadre de la surveillance environnementale du fait de leur fiabilité de répétabilité qui permet au législateur de les utiliser facilement dans un cadre normatif mais aussi fiscal.

En parallèle de ces méthodes inertes, la bio-surveillance tend à se développer. La principale force, mais aussi faiblesse, de la bio-surveillance est sa capacité à refléter les réactions d'un organisme vivant face à un mélange complexe d'effets environnementaux. Le tabac (*Nicotiana tabacum*) BEL W3 est un bon exemple de bioindicateur largement utilisé pour le suivi de l'ozone troposphérique (Vergé *et al.*, 2002).

Comme sur terre, de nombreux organismes sont utilisés comme bioindicateurs en environnement marin. Nous retrouvons par exemple des plantes comme *Posidonia oceanica, Zostera sp.* (Marbà *et al.*, 2012) ou *Cymodocea nodosa* (Marbà *et al.*, 2012; Papathanasiou *et*

[3] Les boues dites « activées » sont des boues régulièrement mécaniquement brassées et aérées afin d'augmenter l'activité de biodégradation des microorganismes qu'elles contiennent.

al., 2016), des holobiontes comme les coraux du genre *Porites* (Cooper & Fabricius, 2012), ou des animaux comme des invertébrés marins (Warwick *et al.*, 1990) ou des poissons tels que les rougets *Mullus barbatus* et *M. surmuletus* (Cresson *et al.*, 2015).

Une des bases de choix d'un bioindicateur est l'adéquation entre l'organisme utilisé et le paramètre surveillé. Il est nécessaire que cet organisme réagisse à l'influence de ce paramètre, qu'après un temps d'exposition suffisant il présente des signes de l'influence de ce paramètre. Cette échelle de temps doit cependant être adaptée à celle de l'effet, ce qui conditionne de fait l'utilité d'un organisme comme bioindicateur. Par exemple, dans le cadre de l'ozone qui présente un effet rapide sur la santé, un indicateur précoce est nécessaire. Un indicateur très précisément associé à la concentration troposphérique d'ozone mais nécessitant un mois pour montrer un signe d'impact sera inutile. À l'inverse, un indicateur moins précis, comme le tabac BEL W3, mais qui présente une réponse hebdomadaire voire quotidienne est plus intéressant, même si dans ce cas des méthodes en temps réel comme l'absorption ultra violet (Malicet *et al.*, 1995) ou infra rouge (da Silveira Petruci *et al.*, 2013) restent plus adaptées.

Pour la bioindication, sur un organisme sélectionné, il faut choisir une méthode d'analyse d'un ou plusieurs paramètres variant sous l'influence de l'environnement.

Nous avons choisi, pour étudier l'environnement côtier, de travailler sur des poissons. Pour observer un impact rapide et précoce des composés à tester, un stade de développement correspondant à une forte sensibilité des poissons à la qualité de leur environnement et aux polluants en particulier est souhaité, ce qui correspond aux premiers stades de leur développement (Azad, 2013). L'objectif étant de pouvoir comparer les résultats obtenus en laboratoire avec des résultats de terrain, il est nécessaire de travailler sur des individus les plus jeunes possibles, pour maximiser leur sensibilité (Azad, 2013), et à un stade de développement se retrouvant *in situ* en zone côtière. Ce stade correspond aux "settlers" définis comme des "early juvenile (post-larval) fishes" (Cheminée, 2012) arrivant sur les côtes. Le stade le plus précoce employable est donc le stade larve post-flexion / juvénile (Figure 1-4).

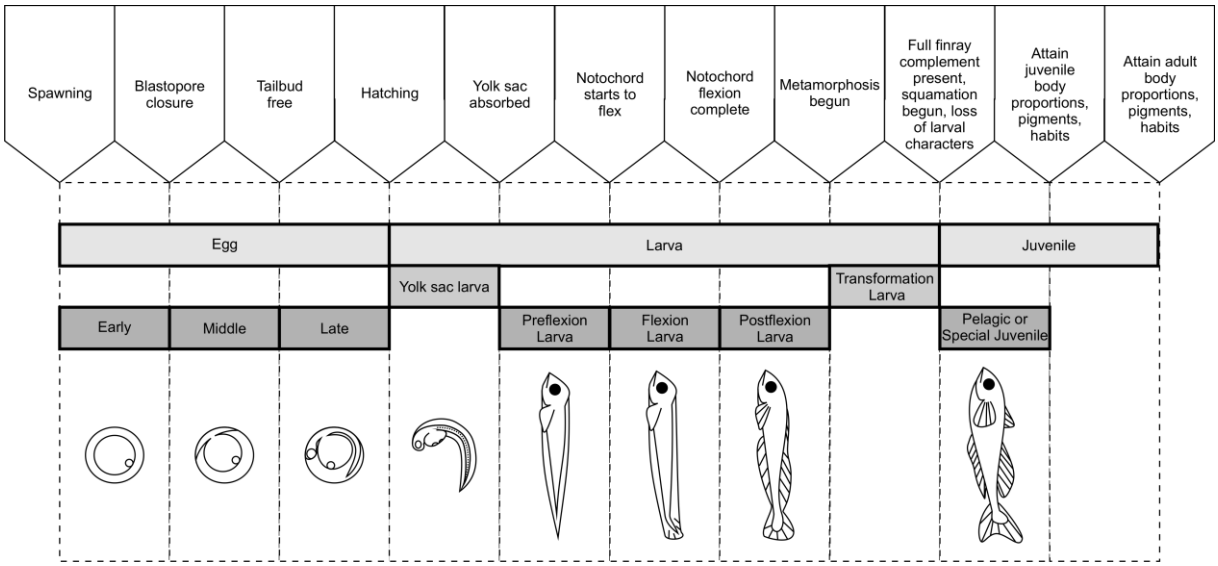


Figure 1-4: Stades précoces de développement chez le poisson.
Jalons blancs : jalons délimitant les stades de développement ; gris clair : stades primaires de développement ; gris : stades transitionnels ; gris foncé : subdivisions des stades primaires.
Terminologie et illustration des différents états d'évolution des poissons depuis la ponte de l'œuf jusqu'à l'atteinte des caractères de l'adulte. (Vandenbussche, 2011) modifié d'après (Kendall *et al.*, 1983).

Nous avons choisi d'évaluer deux méthodes de quantification d'un impact environnmental sur ces juvéniles de poissons.

L'une de ces méthodes est l'analyse de l'asymétrie fluctuante (AF) qui est définie comme la présence de différences aléatoires entre les côtés droit et gauche d'un organisme pour un caractère bilatéral, différences de taille, forme ou nombre. A partir d'observations, plusieurs auteurs ont été amenés à proposer l'asymétrie fluctuante comme un indicateur intéressant de différents types de stress liés par exemple à la nutrition (Grønkjær & Sand, 2003), la pollution (Sopinka *et al.*, 2012), ou encore les conditions de vie (Almeida *et al.*, 2008). Malgré ces résultats, d'autres études ont montré l'absence de relation entre l'AF et le stress (Vøllestad & Hindar, 2001; Øxnevad *et al.*, 2002; Kruuk *et al.*, 2003). Notons que le nombre de ces résultats négatifs a probablement été sous-évalué à cause d'un biais de publication (Palmer, 1999; Díaz-Gil *et al.*, 2015; Debat, 2016), les résultats positifs faisant plus facilement l'objet de publication que les négatifs.

Pour une étude d'AF, il est important de choisir une structure symétrique dont le développement puisse être facilement quantifié et qui ne puisse pas être endommagée lors de l'échantillonnage. De par leur solidité (structure calcifiée), leur position protégée au sein de la boite crânienne, leur croissance circadienne (donc potentiellement perturbée en un jour), les otolithes de poissons semblent donc des candidats intéressants pour ce type d'étude d'asymétrie.

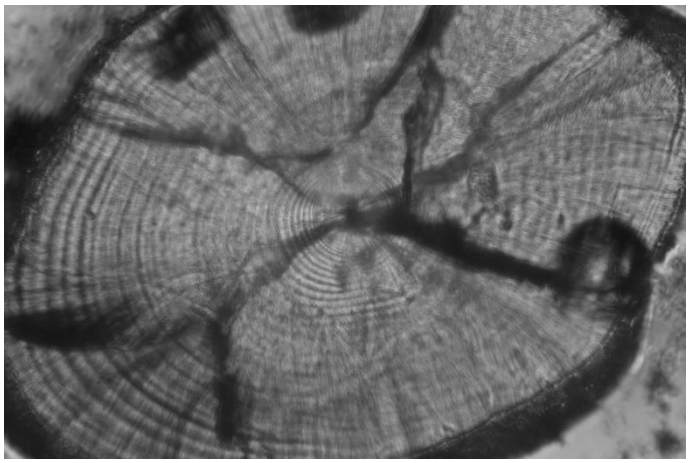


Figure 1-5 : Section d'un otolithe (*sagitta*) d'*Oblada melanura* faisant apparaitre les stries de croissance (x200). Age estimé : environ 30 jours.

Cet accroissement circadien (Parmentier *et al.*, 2007) est identifiable sur une coupe d'otolithe par un ajout quotidien d'une bande claire et une sombre (Figure 1-5) dont la proportion matrice protéique / carbonate de calcium varie. Les larges bandes claires, correspondant à une période d'accroissement rapide, sont majoritairement composées d'aragonite, alors que les bandes sombres, plus fines et associées à une période d'accroissement plus lente, sont majoritairement constituées de protéines de type kératine (Degens *et al.*, 1969; Pannella, 1971; Morales-Nin, 2000). Une modification dans ces accroissements quotidiens sera plus facilement observable si ces accroissements sont proportionnellement grands par rapport à la taille de l'otolithe. De fait, plus l'âge d'un individu augmente, moins ces accroissement sont grands par rapport à la taille totale de l'otolithe (Anken *et al.*, 2002). De plus, il a été montré que l'asymétrie des otolithes des jeunes tilapias du Mozambique *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852) peut rapidement changer en fonction de leur environnement (Anken *et al.*, 1998). Nous avons donc choisi d'étudier l'AF des otolithes de jeunes poissons. L'asymétrie d'un seul paramètre est reconnue comme peu représentative de l'instabilité du développement d'un individu (Gangestad & Thornhill, 1999; Palmer & Strobeck, 2003b; Van Dongen, 2006), c'est pour cette raison que nous avons mesuré plusieurs paramètres sur les *sagittae*. Toutefois ils appartiennent à une même structure, ce qui peut être critiquable. Cependant nous avons écarté l'étude classique de paramètres externes comme le nombre d'écailles ou de rayons des nageoires car ces structures sont très facilement endommagées lors de la capture de poissons au jeune âge que nous avons testé.

Afin d'apporter des informations complémentaires aux mesures d'asymétrie d'otolithes de poissons vivants dans des milieux plus ou moins perturbés, nous avons aussi procédé à des comparaisons plus classiques de formes de ces otolithes, basées sur l'étude de leur contour à

l'aide d'une méthode appelée, par Giardina et Kuhl en 1977 (Giardina & Kuhl, 1977), analyse elliptique de Fourier (AEF).

Les travaux présentés dans ce manuscrit font partie d'un sujet original de recherche, portant sur la caractérisation et la validation d'un indicateur de stress environnemental chez les poissons, qui a débuté dans le Laboratoire avec cette thèse. L'objectif de ce travail était donc de déterminer si l'étude de l'asymétrie fluctuante et/ou de la forme des otolithes de juvéniles de *Dicentrarchus labrax* et *Oblada melanura* pouvaient être utilisées en bioindication de perturbation de l'environnement.

II - Généralités

II.A - Le stress

Selon le Centre National des Ressources Textuelles et Linguistiques, dans le cadre de la physiologie et de la psychologie un stress peut être défini comme une "*agression de l'organisme par un agent physique, psychique, émotionnel entraînant un déséquilibre qui doit être compensé par un travail d'adaptation*" (Pierrel *et al.*, 2013a).

De manière plus générale, le stress peut être défini comme une perturbation d'un système à l'équilibre nécessitant une adaptation pour arriver à un nouvel état d'équilibre, l'état initial et l'état final pouvant être différents. Le principe des vases communiquant et le pendule sont deux exemples de physique qui permettent d'illustrer simplement cette définition.

Dans le cas des vases communiquant, à l'état initial les deux récipients sont remplis à des niveaux différents, le robinet du conduit les reliant est fermé, le système est à l'équilibre. Si nous créons une perturbation (stress) de cet équilibre en ouvrant le robinet, le système va devoir s'adapter à ce changement. Cela se traduit ici par une diminution du niveau le plus élevé et une augmentation du niveau le plus faible. Ce mouvement se poursuit jusqu'à ce que le système atteigne un nouvel équilibre : une hauteur de colonne de liquide identique pour les deux récipients vis-à-vis du point le plus bas du système. Une fois cet état atteint le système est de nouveau à l'équilibre. Dans ce cas, ce nouvel équilibre est différent de l'état initial.

Dans le cas du pendule, à l'état initial le pendule est immobile, la corde est tendue et perpendiculaire au sol. Si nous créons une perturbation de cet équilibre en fournissant de l'énergie à ce pendule, c'est-à-dire en déplaçant le poids tout en maintenant la corde tendue, puis en lâchant ce poids, ce dernier se met à osciller autour du point d'origine. Cette oscillation perdure jusqu'à l'épuisement de l'énergie fournie, à cause des frottements. Le pendule revient alors à son état initial. Dans ce cas l'état initial et l'état final du système sont identiques.

Selon John Cairns (Cairns, 2013), nous pouvons définir un stress environnemental comme "*An action, agent, or condition that impairs the structure or function of a biological system*". Il ne peut être défini que par rapport à un récepteur, le système biologique exposé, et doit entrainer une réponse de ce système biologique. Le stress peut donc être décrit par la séquence suivante : équilibre d'un système, perturbation de cet équilibre, réponse de ce

système. Il est important d'insister ici sur le fait que l'origine d'un stress environnemental peut être ou non anthropique et peut être liée ou non à plusieurs sources de perturbations (Almeida *et al.*, 2008).

Du point de vue de la biologie évolutive, Hoffmann et Parsons (Hoffmann & Parsons, 1991) définissent le stress comme "*un facteur environnemental causant des changements potentiellement délétères dans un système biologique*". Cette définition présente l'intérêt de souligner, comme l'indique Parsons (Parsons, 1992), l'"*impact majeur*" du stress "*sur de nombreux processus évolutifs et écologiques*", en attirant l'attention sur "*les dommages irréversibles causés aux organismes indépendamment de leur densité ou de leur fréquence*".

Cette définition, en mettant l'accent sur les effets négatifs d'un stress de par sa formulation, sous-entend, sans en nier l'existence, l'absence d'induction par un stress de changements potentiellement profitables dans un système biologique. D'autres disciplines comme la physiologie végétale (Jansen & Potters, 2017) ou l'endocrinologie (avec l'ensemble des travaux de Hans Selye) abordent le stress sous un angle plus large en considérant explicitement deux types de stress. Le premier type de stress correspond à un impact négatif conduisant à des dommages irréversibles, voir à la mort de l'organisme, et est appelé *Distress*. Le second type de stress conduit à des dommages réversibles, voir à une amélioration de l'état de l'organisme, et est appelé *Eustress*. Un autre domaine, par exemple les neurosciences, utilisera une définition différente de ces termes. En neurosciences, le terme *Distress* sera employé en cas d'agression de l'organisme, conduisant ou non à des dommages (réversibles ou non), et le terme *Eustress* sera employé "*si l'agression est absente, si l'émotion est agréable ou que le sujet trouve un sens à la variabilité de l'existence qui façonne sa subjectivité*" (Gandolfo, 2007). Comme précédemment, cette définition est adaptée au point de vue de la discipline concernée. Dans ce travail, nous définirons le stress avec ses deux aspects négatif ou positif tels que décrits ci-dessus pour l'endocrinologie.

Dans le cas d'un écosystème marin côtier, de nombreuses méthodes existent pour étudier des réponses au stress, certaines très rapides comme les analyses microbiologiques et/ou chimiques d'un prélèvement d'eau de mer, d'autres beaucoup plus longues comme l'étude de l'évolution de la diversité biologique de cet écosystème sur de nombreuses années.

II.B - La fitness

La *fitness* d'un système est un paramètre qui va conditionner l'évolution et la persistance de ce système.

Dans le cas d'un organisme vivant, ou plus rarement d'une population ou d'une espèce, la *fitness* pourra être quantifiée par sa capacité à survivre, se développer et se reproduire (Orr, 2009). Par exemple l'apport d'engrais (perturbation d'un système) dans une jardinière contenant un substrat dépourvu de nutriments, un sable de silice par exemple, améliorera, comparativement à la même jardinière mais sans cet apport, la *fitness* des plantes qui y sont cultivées et cette *fitness* pourra être quantifiée par une croissance plus rapide de ces plantes. De même l'arrêt de l'arrosage de cette jardinière (perturbation de ce système) va entraîner une diminution de la *fitness* qui pourra être quantifiée par le niveau de flétrissement des plantes cultivées.

II.C - Le développement

Le développement est ici entendu comme la "trajectoire de développement" suivie par un organisme et aboutissant à un "résultat de développement" ou phénotype particulier. Le résultat de ce développement dépendra de la trajectoire de développement qu'il empruntera. Cette trajectoire est influencée par trois paramètres : la stabilité, l'instabilité et la canalisation du développement.

La stabilité du développement correspond à l'efficacité des mécanismes de compensation des perturbations du développement associées à des conditions environnementales et génétiques définies (Palmer, 1994; Polak, 2003a). Cela représente la capacité d'un organisme, compte tenu des perturbations liées à un environnement et à un patrimoine génétique particuliers, à s'approcher du résultat "idéal" (Palmer, 1994) / "standard" (Polak, 2003a) lors de son développement.

L'instabilité ou bruit du développement, définie par Michal Polak (Polak, 2003a), correspond à l'ensemble des évènements (éléments / facteurs) aléatoires indépendants et non hérités qui vont venir perturber la trajectoire de développement et conduire à des variations aléatoires du résultat du développement. Pour Palmer (Palmer, 1994), Nijhout et Davidowitz (Nijhout & Davidowitz, 2003) ces perturbations sont associées à des conditions environnementales particulières.

La canalisation du développement correspond aux processus qui interviennent pour maintenir la trajectoire du développement entre certaines limites en la contraignant, pour conduire à un résultat proche du résultat "idéal" / "standard" (Palmer, 1994; Nijhout & Davidowitz, 2003; Polak, 2003b). La canalisation se différencie de la stabilité du développement par le fait qu'elle n'est pas associée à des conditions environnementales et génétiques définies mais variées. Pour un caractère, plus le coût fonctionnel d'un écart au résultat de développement "standard" est important, plus le développement de ce caractère aurait tendance à être fortement canalisé (Palmer, 1994; Debat, 2016). Par exemple nous pouvons supposer que chez l'Homme le développement du cœur (coût fonctionnel important) est plus canalisé que celui des éphélides (coût fonctionnel faible).

L'image simple que propose Polak ((Polak, 2003a) d'après (Waddington, 1957)) représente le développement d'un individu comme le déplacement d'une balle sur un plan incliné, balle lâchée depuis la position centrale du haut du plan et devant idéalement arriver au centre de la zone la plus basse ou vallée (Figure 1-6). La stabilité du développement correspond à la concavité du plan. Plus ce plan sera concave, plus la balle, malgré les imperfections de sa surface et celles du terrain, aura tendance à terminer sa course au centre de la vallée. A l'inverse moins ce plan sera concave, plus la balle aura tendance à terminer sa course à un emplacement aléatoire, cela même sans aucune imperfection de sa surface ou du terrain. L'instabilité du développement va correspondre aux irrégularités de la balle (associées à son "patrimoine génétique") et du plan incliné (associées à l'environnement). Cette instabilité du développement va donc avoir tendance à rendre aléatoire la trajectoire de développement (celle de la balle) et à diminuer la probabilité d'une arrivée au centre de la vallée (le résultat idéal). La canalisation correspond aux "murs" de chaque côté du plan. Plus la canalisation est importante, plus ces murs sont rapprochés, limitant de fait la variabilité des emplacements d'arrivée quelles que soient la stabilité du développement et son instabilité.

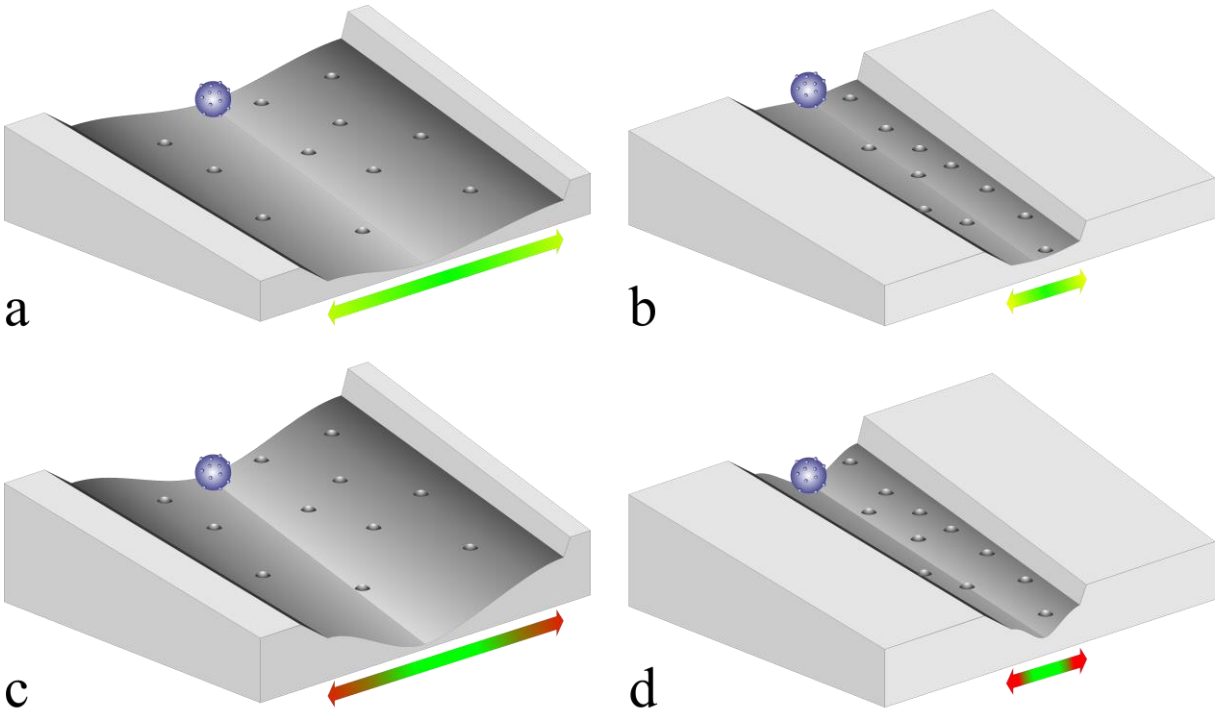


Figure 1-6 : Trajectoires du développement dans différentes conditions de stabilité et de canalisation.
a : faible stabilité du développement et faible canalisation ; b : faible stabilité du développement et forte canalisation ; c : forte stabilité du développement et faible canalisation ; d : forte stabilité du développement et forte canalisation. Les sphères sur le plan incliné et sur la balle représentent les perturbations. La flèche située sous chaque graphique représente l'étendue des résultats possibles, la zone verte correspondant aux résultats les plus probables.

Chez un organisme présentant un caractère à symétrie bilatérale, le résultat idéal du développement pour ce caractère (centre de la vallée) serait une symétrie parfaite, les écarts aléatoires à cet idéal correspondraient alors aux asymétries résultant des différentes trajectoires de développement. Si nous reprenons les quatre mêmes conditions que celles présentées à la Figure 1-6, et que nous répétons un grand nombre de fois, pour chacune de ces conditions, la mesure du résultat du développement d'un caractère à symétrie bilatérale, nous obtiendrons les profils de la Figure 1-7.

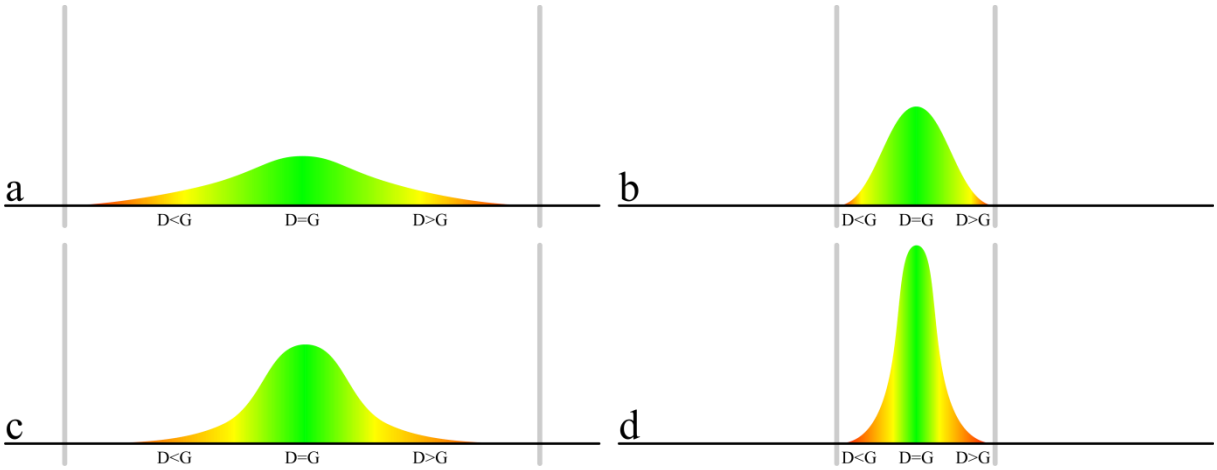


Figure 1-7: Répartitions hypothétiques des résultats du développement d'un caractère à symétrie bilatérale, pour différents niveaux de stabilité et de canalisation du développement de ce caractère.
a : faible stabilité du développement et faible canalisation ; b : faible stabilité du développement et forte canalisation ; c : forte stabilité du développement et faible canalisation ; d : forte stabilité du développement et forte canalisation. D = caractère mesuré à droite, G = caractère mesuré à gauche.

II.D - La symétrie

La symétrie est définie dans le Trésor de la langue française de la manière suivante :

"SYMÉTRIE, subst. fém. [À propos d'un animé ou d'un inanimé] Correspondance exacte de forme, de grandeur, de position que les éléments d'un même ensemble, que deux ou plusieurs ensembles, entretiennent entre eux, lorsqu'ils sont de part et d'autre d'un axe, d'un plan, d'un point ou autour d'un centre. Anton. asymétrie, dissymétrie.» (Pierrel et al.*, 2013b)*.

Les symétries sont nombreuses dans le monde vivant. Elles peuvent concerner des organismes entiers de façon relativement simple, par exemple la symétrie bilatérale chez les vertébrés telle la tortue sillonnée *Geochelone sulcata* (Miller, 1779) ou la symétrie radiale chez les cnidaires telle *Anemonia viridis* (Forskål, 1775), ou de façon beaucoup plus complexe, comme les symétries hélicoïdales de plantes ou de certaines capsides de virus tel celui de la mosaïque du tabac. Elles peuvent aussi ne concerner qu'une partie de l'organisme comme dans le cas des symétries sérielles, par exemple les vertèbres des vertébrés ou les croissances monopodiale du chèvrefeuille des haies *Lonicera xylosteum* (Linnaeus, 1753) ou sympodiale du lilas commun *Syringa vulgaris* (Linnaeus, 1753), ou encore les métamères des Isopodes tel le cloporte *Armadillidium vulgare* (Latreille, 1804).

II.E - Les asymétries

L'asymétrie est définie dans le Trésor de la langue française de la manière suivante :

"ASYMÉTRIE, subst. fém. Défaut de symétrie." (Pierrel et al*., 2013b).*

Nous parlerons donc d'asymétrie en cas d'absence d'un ou plusieurs axes de symétrie chez un organisme. Ce caractère asymétrique peut être inné, acquis, ou un mélange des deux comme pour le homard américain, *Homarus americanus* (H. Milne Edwards, 1837) qui va pouvoir développer une asymétrie de ses pinces si à un moment précis de son développement, déterminé génétiquement, il rencontre des conditions environnementales favorisant l'apparition d'une asymétrie (Govind, 1992).

Chez les organismes présentant globalement une symétrie, il est possible de mesurer au niveau des individus des différences plus ou moins marquées entre les parties symétriques. Dans le cas de la symétrie bilatérale, pour un paramètre donné nous pouvons donc effectuer la différence entre la valeur de ce paramètre pour le côté droit et la valeur de ce même paramètre pour le côté gauche. Nous obtenons donc une valeur positive si la valeur du paramètre est plus importante pour le côté droit ou négative si elle est plus forte pour le côté gauche, ces valeurs étant plus ou moins importantes selon les individus. Si nous représentons les valeurs obtenues pour une population donnée sous la forme d'une courbe de densité, nous obtenons trois profils possibles correspondant aux trois types classiques d'asymétrie.

II.E.1 - L'asymétrie directionnelle

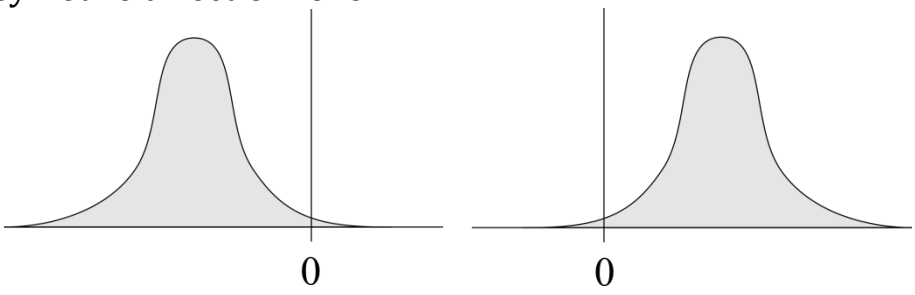


Figure 1-8: Asymétrie directionnelle.
Représentation graphique des différences entre les valeurs du caractère à droite et à gauche pour une population, pour un caractère présentant une asymétrie directionnelle. Partie de gauche, cas où le caractère est plus développé à gauche ; partie de droite, cas où le caractère est plus développé à droite.

Nous parlons d'asymétrie directionnelle lorsque, au niveau d'un échantillon d'individus présentant une différence statistiquement significative entre les côtés pour un caractère, la majorité des individus présente le même plus grand côté (Palmer, 1994). Dans ce cas, nous obtenons une des deux courbes de la Figure 1-8. Cette courbe aura la forme d'une courbe de Gauss mais présentera une moyenne différente de 0. Cette asymétrie est rencontrée par

exemple chez les poissons plats comme le turbot (*Scophthalmus maximus*) ou la sole (*Solea impar*). De même, l'Homme présente ce type d'asymétrie au niveau du cœur situé à gauche dans la cage thoracique sauf dans de rares cas de *situs inversus*.

II.E.2 - Les asymétries non directionnelles

Nous parlerons d'asymétrie non directionnelle lorsque dans un échantillon d'individus présentant une différence statistiquement significative entre les côtés pour un caractère, la moyenne des différences entre la valeur du côté droit et celle du côté gauche n'est pas différente de 0. Deux principaux cas existent pour ce type d'asymétrie.

II.E.2.a - Antisymétrie

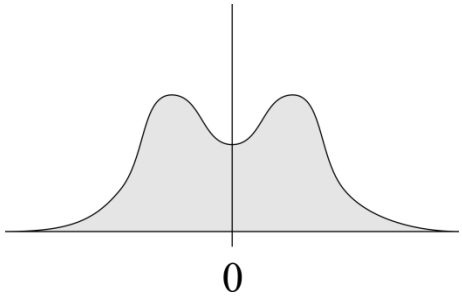


Figure 1-9 : Antisymétrie.
Représentation graphique des différences entre les valeurs du caractère à droite et à gauche pour une population, pour un caractère présentant une asymétrie non directionnelle de type antisymétrie.

Nous parlons d'antisymétrie lorsqu'au niveau d'un échantillon d'individus les conditions suivantes sont respectées :

- absence d'une différence statistiquement significative entre la moyenne des côtés droit et gauche,
- la valeur moyenne des différences entre droite et gauche n'est pas significativement différente de zéro,
- le côté le plus grand varie de manière aléatoire,
- la distribution de fréquence des valeurs de différence droite-gauche (D-G) ne suit pas la loi normale du fait d'un platykurtisme (aplatissement) (Palmer, 1994).

De fait, la valeur moyenne de l'asymétrie pour cette population sera nulle mais le profil de la courbe sera bimodal (deux pics) et platykurtique comme le montre la Figure 1-9. Nous retrouvons ce type d'asymétrie par exemple pour les pinces du crabe violoniste (*Uca pugilator*) ou du homard américain, *Homarus americanus* (H. Milne Edwards, 1837), ou encore pour l'Homme dans la préférence de positionnement lors du croisement des bras.

II.E.2.b - Asymétrie fluctuante

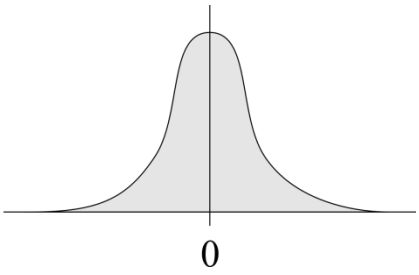


Figure 1-10 : Asymétrie fluctuante.
Représentation graphique des différences entre les valeurs du caractère à droite et à gauche pour une population, pour un caractère présentant une asymétrie non directionnelle de type asymétrie fluctuante.

Nous parlons d'asymétrie fluctuante lorsqu'au niveau d'un échantillon d'individus les conditions suivantes sont respectées :

- absence d'une différence statistiquement significative entre la moyenne des côtés droit et gauche,
- la valeur moyenne des différences entre droite et gauche n'est pas significativement différente de zéro,
- le côté le plus grand, s'il existe, varie de manière aléatoire,
- la distribution de fréquence des valeurs (D-G) suit la loi normale (Palmer, 1994).

Dans ce cas la distribution des fréquences sera comme sur la Figure 1-10.

Nous retrouvons ce type d'asymétrie par exemple chez l'Homme pour la répartition des éphélides.

Des recherches ont conduit à proposer que cette asymétrie pourrait être utilisée pour quantifier la stabilité développementale, de par son augmentation supposée en présence d'un stress d'origine soit génétique (Wilkins & Gosling, 1995; Vøllestad *et al.*, 1999; Mazzi *et al.*, 2002; Borrell *et al.*, 2004) soit environnementale (Vøllestad *et al.*, 1998; Allenbach *et al.*, 1999; Polak *et al.*, 2002; Bergstrom & Reimchen, 2005; Møller, 2006; Turner *et al.*, 2007; Allenbach, 2010).

Cette capacité supposée de l'asymétrie fluctuante à refléter la stabilité du développement en a d'ailleurs fait un outil utilisé dans plusieurs domaines, comme l'écotoxicologie. L'AF a par ailleurs été largement utilisée en biologie évolutive du développement, discipline ayant, comme l'indique McKenzie (McKenzie, 2003), comme postulat de départ que plus des d'individus parviennent à maintenir une voie de développement particulière, malgré des perturbation environnementales et génétiques, mieux ces individus sont adaptés.

II.F - Les otolithes

Le terme otolithe est composé des termes issus du Grec *ото-/oto-* (oreille) et *λιθος/lithos* (pierre) et peut donc être compris comme "pierres d'oreille". Ce sont de petites pièces calcifiées situées dans les oreilles internes, constituées de carbonate de calcium ($CaCO_3$) ayant précipité sur une matrice protéique composée de protéines de type kératine (Degens *et al.*, 1969; Pannella, 1971; Morales-Nin, 2000). Le terme otolithe se rapporte plus particulièrement aux poissons téléostéens, bien que des pièces calcifiées soient aussi retrouvées au niveau de l'oreille interne de nombreux vertébrés pour lesquels d'autres termes sont préférés comme "statoconie" chez l'Homme (Marcelli *et al.*, 2016).

Chez les poissons téléostéens, il existe trois paires d'otolithes nommés en fonction de la chambre du labyrinthe vestibulaire les contenant, comme indiqué sur la Figure 1-11. De chaque côté, ces trois chambres sont connectées entre elles par trois canaux semi-circulaires. Les trois paires d'otolithes baignent dans l'endolymphe que contient ce système (Morales-Nin, 2000).

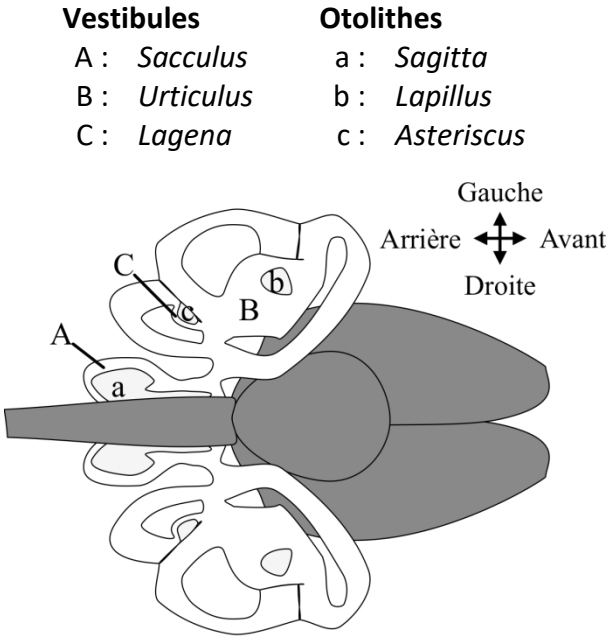


Figure 1-11 : Schéma théorique de l'appareil vestibulaire d'un poisson téléostéen.
En gris : cerveau ; en blanc : appareil vestibulaire ; en gris clair otolithes. D'après Secor (Secor *et al.*, 1992).

Ces otolithes ont une croissance continue qui s'effectue par dépôts successifs, comme pour une perle. L'alternance de dépôts riches en matière organique, appelés D-zones et apparaissant comme sombres (dark) quand ils sont observés à la lumière transmise, et de dépôts riches en carbonate de calcium ($CaCO_3$), appelés L-zones et apparaissant comme clair (light) quand observés dans les même conditions, s'effectue selon un rythme circadien (Degens *et al.*, 1969; Pannella, 1971; Secor *et al.*, 1995; Morales-Nin, 2000). La D-zone semble

se développer durant la journée et la L-zone durant la nuit (Parmentier *et al.*, 2007). Trois types de cristaux de $CaCO_3$ existent. Cependant la vatérite et l'aragonite sont majoritairement rencontrées (Figure 1-12), leurs proportions et localisations variant selon l'otolithe et l'espèce observée (Oliveira *et al.*, 1996; Falini *et al.*, 2005; Parmentier *et al.*, 2007). La calcite semble surtout retrouvée dans des otolithes anormaux (Morales-Nin, 2000).

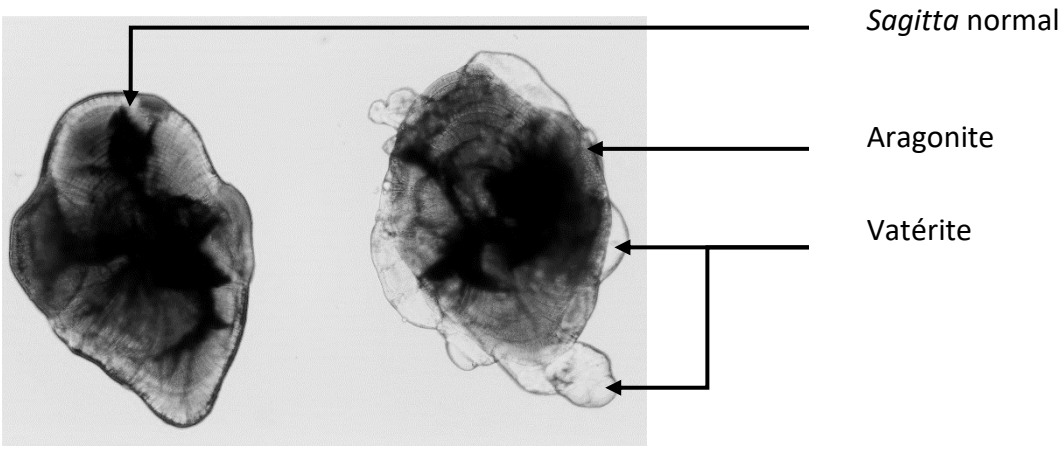


Figure 1-12 : *Dicentrarchus labrax*, paire d'otolithes présentant une anomalie de cristallisation du $CaCO_3$.

Les otolithes sont un constituant important du labyrinthe vestibulaire (oreille interne). Ils permettent la transduction d'informations mécaniques telles que les mouvements (principalement les *asterisci*) et les ondes sonores (principalement les *sagittae* et *lapilli*) en signaux nerveux. Pour cela, ils agissent mécaniquement sur les cellules ciliées de l'épithélium sensoriel appelé macula (Figure 1-13) (Morales-Nin, 2000).

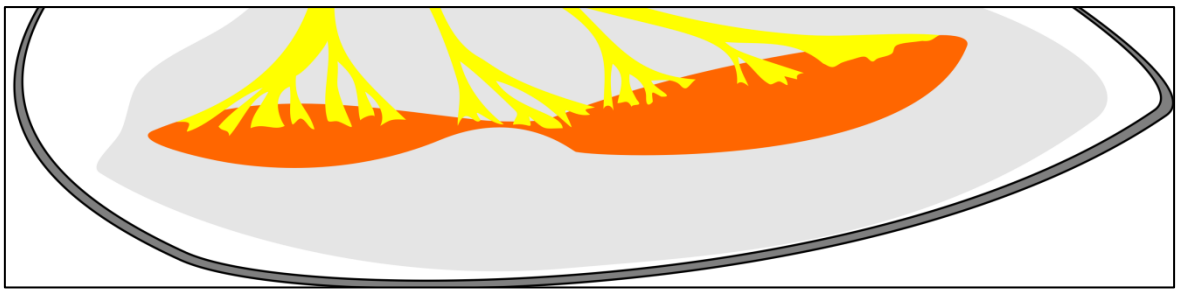


Figure 1-13 : Schéma de l'innervation de la macula associée à un otolithe (*sagitta*) dans sa cavité vestibulaire. En jaune : fibres nerveuses ; en orange : macula sensorielle (*macula sacculi*) ; en gris : *sagitta* ; en blanc : cavité otique ; en gris foncé : paroi du vestibule. D'après un dessin de Antoni Lombarte (Morales-Nin, 2000).

De par leur rôle dans le labyrinthe vestibulaire, une asymétrie importante des otolithes pourrait introduire une modification de perceptions spatiale et auditive.

Au niveau des *sagittae*, le sillon laissé par la macula lorsque l'otolithe est extrait est aisément identifiable (Figure 1-14) et est nommé *sulcus acusticus*. La forme des otolithes variant fortement selon les espèces (Morrow, 1979), c'est un point de repère précieux pour orienter le *sagitta*.

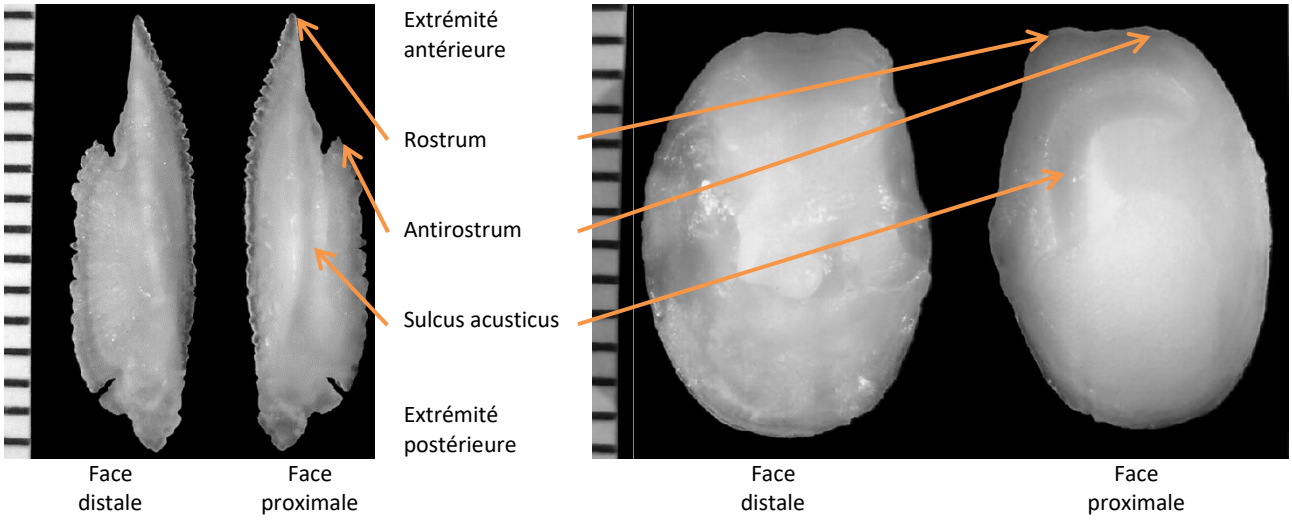


Figure 1-14 : Eléments remarquables sur les *sagittae* droits de deux espèces différentes. Photographie de gauche : *Scorpaena scrofa* ; photographie de droite : *Sciaena umbra*. Le côté dorsal de chaque otolithe est orienté vers le centre de chaque photographie, le côté ventral vers l'extérieur. L'échelle est donnée en millimètres.

Chapitre 2 - In aquaria

I - Introduction

Les zones côtières étant le lieu d'une forte activité humaine, nous souhaitions, avant d'entamer un suivi *in situ* de l'influence de l'environnement sur la faune ichtienne, déterminer, en conditions contrôlées et sur une espèce modèle, *Dicentrarchus labrax*, si des contaminants spécifiques des types de sites nous intéressant, à savoir des ports de plaisance et des cours d'eau, pouvaient avoir un effet sur les otolithes du point de vue de l'asymétrie et/ou de la forme. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'effet potentiel de constituants respectivement de peinture (Konstantinou & Albanis, 2004; Damiens *et al.*, 2007) et d'engrais (J. Álvarez-Rogel *et al.*, 2006), testés substance par substance.

Pour cela, nous avons réalisé des expérimentations en conditions contrôlées au niveau de microcosmes, des aquariums. Cette étude nous a permis de tester différentes concentrations de chaque substance choisie (phosphate ou métal) sur des poissons, afin d'en déterminer les effets et d'en vérifier le caractère reproductible.

Dans cette optique, il était donc crucial de parfaitement maîtriser les conditions expérimentales, c'est-à-dire, dans le cas de notre expérimentation sur des poissons, de veiller à la qualité de l'eau, l'oxygénation du milieu, l'apport en nourriture, le cycle circadien, la température de l'eau, les nuisances sonores, l'élimination des déchets, etc. Il était particulièrement important de minimiser le stress des conditions de maintien afin de tenter de révéler un impact du stress potentiel induit par la substance chimique à tester. Ce type d'expérimentation n'existait pas au Laboratoire avant ce sujet de thèse, tout a donc été à mettre au point.

II - Méthodes

II.A - Matériel vivant

Lors des expérimentations *in aquaria*, nous avons utilisé un poisson de Méditerranée, *Dicentrarchus labrax,* ou loup ou bar selon les régions.

Classe : Actinopteri
Ordre : Perciformes
Sous-Ordre : Percoidei
Famille : Moronidae
Genre : Dicentrarchus (Gill, 1860)
Espèce : *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758)

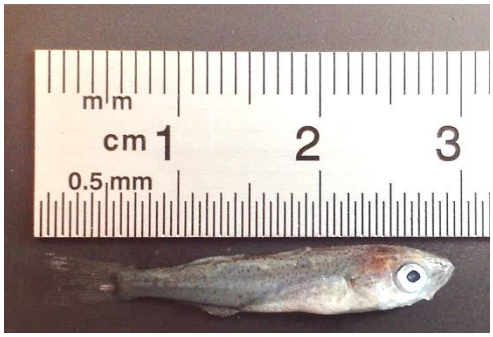


Figure 2-1 : Juvénile de *Dicentrarchus labrax.*

C'est une espèce prédatrice qui affectionne les eaux très agitées et dont le régime alimentaire est constitué de petits crustacés, mollusques et poissons (Barnabé, 1980). Les adultes ont une aire de répartition s'étalant de zones à faible profondeur et salinité, comme les estuaires et lagunes, à des zones océaniques jusqu'à 100 m de profondeur. La base de données FishBase l'indique par ailleurs comme espèce à la fois "marine", "d'eau douce", "saumâtre", "démersale" et "océanodrome" (migrateur pélagique). *D. labrax* est capable de supporter une salinité entre 0,5 ‰ et 90 ‰ (Barnabé, 1980). Ses œufs peuvent éclore à une salinité de 7 ‰ sans pour autant que la survie larvaire en soit affectée.

Ce poisson est intéressant au laboratoire car son cycle de développement est bien connu (Figure 2-2) et maîtrisé depuis de nombreuses années (Devauchelle, 1983; Loix, 1986; Bagni, 2005). Par ailleurs, cette espèce a été proposée et utilisée à de multiples reprises comme modèle *in aquaria* en écotoxicologie (Tornambè *et al.*, 2016).

Le frai se déroule entre décembre et mars, avec un optimum en janvier (Froese & Musschoot, s. d.); Barnabé, 1980), dans des zones présentant une eau à la salinité comprise entre 30 et 35 ‰, comme les zones estuariennes (Bagni, 2005).

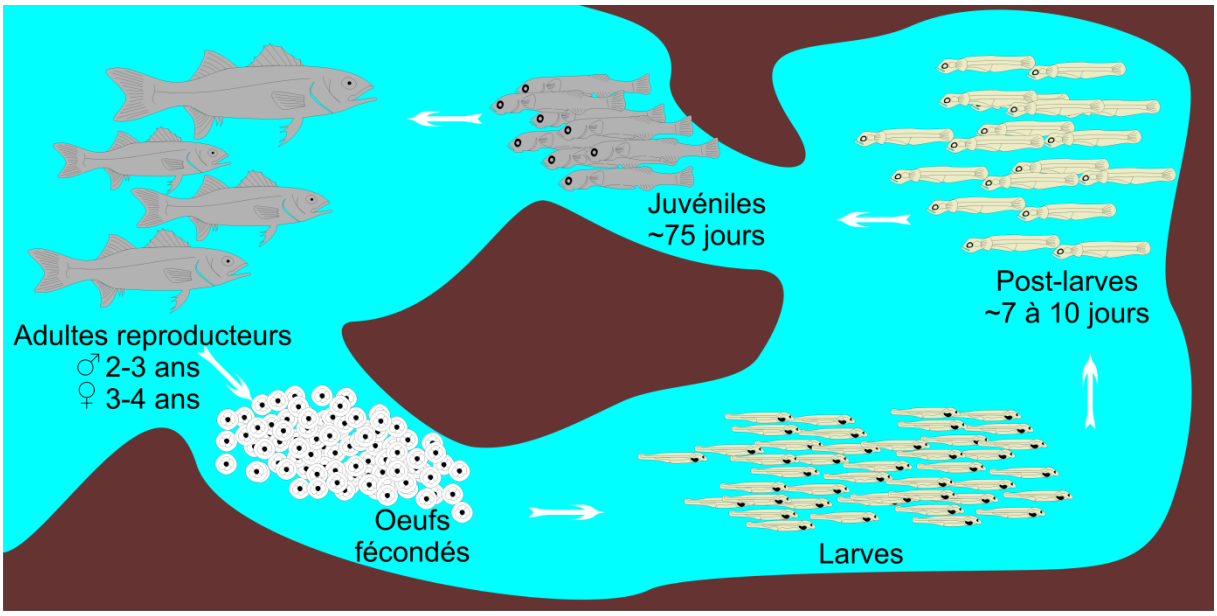
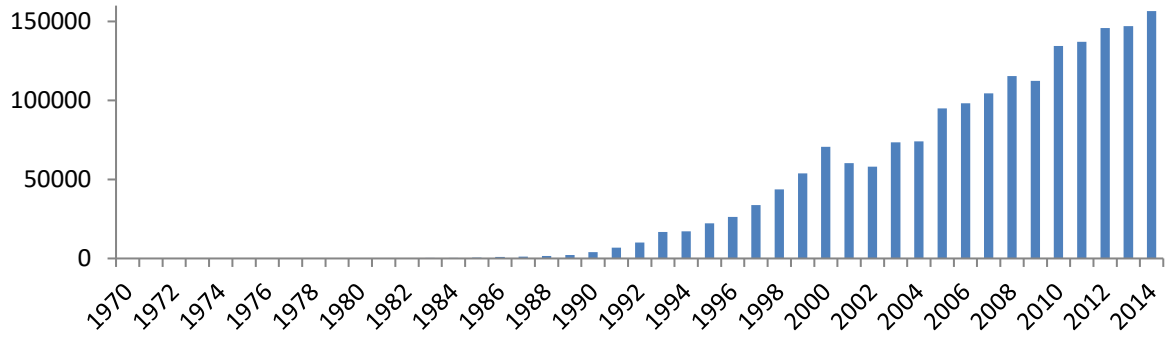


Figure 2-2 : Cycle de reproduction naturel de *Dicentrarchus labrax*.
Les adultes vivent en pleine mer et viennent frayer dans des eaux à plus faible salinité telles les zones estuariennes, les œufs vont y éclore et les nouveaux individus, d'abord larves puis post-larves, vont s'y développer. C'est autour du 75ième jour de développement que ces derniers, alors au stade juvénile, vont rejoindre le large.
D'après Bagni, 2005 (Bagni, 2005).

Les larves présentent un comportement pélagique qui se modifie après leur passage à la phase juvénile (Figure 2-2). Les juvéniles mesurent alors environ 20 mm, adoptent un comportement démersal en rejoignant le fond la nuit et acquièrent ainsi leur caractère ubiquiste (Barnabé, 1980). Cette taille correspond à des individus d'une soixantaine de jours d'après les mesures effectuées sur des poissons issus de fermes aquacoles (leur croissance étant accélérée par rapport aux conditions naturelles).

D. labrax présente plusieurs intérêts économiques. Tout d'abord ses qualités gustatives en font un met de choix. De plus, pour l'aquaculture, les marges générées par la production de cette espèce restent intéressantes : en Italie voisine par exemple un coût de production de 4,00 €/kg (Bagni, 2005) pour un prix de vente moyen variant de 9,77 à 12,88 €/kg(Source : FranceAgriMer, cours moyen entre 25/07/2013 et le 23/07/2016 du "bar frais entier d'aquaculture hors France", cotation au 23/07/2016). Cette production aquacole croît donc à un rythme soutenu depuis 1973 (Figure 2-3) (Bagni, 2005).



Année	Quantité	Année	Quantité	Année	Quantité
1970	0	1985	581	2000	70 694
1971	0	1986	949	2001	60 385
1972	0	1987	1 151	2002	58 133
1973	10	1988	1 667	2003	73 456
1974	20	1989	2 245	2004	74 064
1975	30	1990	3 921	2005	95 044
1976	40	1991	6 744	2006	98 173
1977	50	1992	10 139	2007	104 474
1978	70	1993	16 811	2008	115 403
1979	94	1994	17 092	2009	112 481
1980	130	1995	22 263	2010	134 541
1981	165	1996	26 320	2011	137 064
1982	230	1997	33 832	2012	145 805
1983	300	1998	43 804	2013	147 045
1984	360	1999	53 898	2014	156 449

Figure 2-3: Production aquacole mondiale (sauf Turquie) de *Dicentrarchus labrax* depuis 1970. Exprimée en tonnes, données FAO FishStat.

Les conditions de production maîtrisées sont importantes car elles garantissent une bonne disponibilité du matériel biologique au cours de l'année. Il n'est techniquement pas envisageable de travailler sur des individus produits au laboratoire, mais des individus au stade de développement d'intérêt, « early juveniles » sont disponibles dans une écloserie située relativement à proximité du laboratoire. En écloserie, la production fonctionne par cycles de pontes obtenus par décalage des cycles de reproduction des couples de géniteurs, un cycle correspondant à un groupe défini de géniteurs. De plus, l'entreprise "Les Poissons du Soleil", écloserie, est située à distance raisonnable du laboratoire (4 heures de route environ). Pour des raisons techniques et de survie des jeunes poissons utilisés pour nos expérimentations, il n'est possible de recevoir que des individus âgés d'au moins 42 jours. Cette écloserie ne lance des cycles de production qu'entre janvier et juin, à une fréquence mensuelle, ne rendant possibles les expérimentations qu'entre février et juin, juin et juillet étant difficilement praticables pour des raisons matérielles (période de prélèvement *in situ*). Tous les juvéniles d'une expérience proviennent d'un même cycle de production, donc d'un même groupe de géniteurs, garantissant l'homogénéité de tous les juvéniles répartis aléatoirement dans les bacs de l'expérimentation.

II.B - Composés d'intérêt à tester et leurs gammes de concentrations

II.B.1 - Phosphate

L'importance du phosphore au niveau de l'agriculture mondiale est très bien résumée par les deux premières phrases du *Bulletin FAO : Engrais et nutrition végétale - 13, Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable*, paru en 2004 :

"Le phosphore (P) est un élément qui est largement distribué dans la nature. Il est considéré, avec l'azote (N) et le potassium (K), comme un constituant fondamental de la vie des plantes et des animaux. Le phosphore a un rôle dans une série de fonctions du métabolisme de la plante et il est l'un des éléments nutritifs essentiels nécessaires pour la croissance et le développement des végétaux." (Zapata, 2004)

L'utilisation massive du phosphore en fait un contaminant classique des eaux côtières situées à proximité de zones agricoles ou d'estuaires de fleuves ayant traversé ces zones agricoles (European Environment Agency, 2006; Christiansen *et al.*, 2010).

En Méditerranée, d'après la littérature concernant le phosphore dissous (PO_4^{3-} et -P), des concentrations allant de 0,95 µg.l^{-1} au niveau de la petite rade de Toulon en février 2007 (Rossi, 2008), à 12,32 mg.l^{-1} sur les côtes espagnoles à proximité de Murcia en juillet 2002 (J. Álvarez-Rogel *et al.*, 2006), ont été relevées. La Table 2-1 présente une liste de travaux ayant porté sur les concentrations de phosphore dissous en Méditerranée.

Table 2-1 : Exemples d'études ayant traité des concentrations de phosphore dissous en Méditerranée.

Date	Pays	Site	Phosphore dissous en µg/l	Référence
2006-2007	France	Toulon	0,95 - 21,9	(Rossi, 2008)
2007	Egypte	Large de Damiette Harbor	8,55 - 16,2	(Faragallah *et al.*, 2009)
2008	Egypte	El-Mex Bay	247-2527	(Nessim, R. B. *et al.*, 2010)
2002-2003	Espagne	Murcia, Rambla de Miranda	5270-12320	(J. Álvarez-Rogel *et al.*, 2006)
		Murcia, Rambla del Medio	400-1730	
2003	Egypte	Alexandrie, Egypte	0,07 - 2,59	(European Environment Agency, 2006)
2008	Chypre	Chypre	0,4 - > 2,1	(Christiansen *et al.*, 2010)
2008	Côte est Adriatique		<0,4 - > 2,1	

Chez le poisson, le phosphate peut être utilisé en conditions contrôlées pour améliorer la croissance d'individus (Hepher & Sandbank, 1984; Nwanna *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2012).

Afin de tester les effets du phosphore dissous sur la mise en place d'une asymétrie au niveau des otolithes de poissons en développement, nous avons utilisé comme source le

phosphate de sodium (Na_3PO_4). Il s'agit d'un composé inorganique qui, à température ambiante (20 °C), se présente sous la forme d'une poudre blanche soluble dans l'eau, où il se dissocie comme suit :

$$Na_3PO_4 \rightarrow PO_4^{3-} + 3\ Na^+$$

L'équilibre suivant va alors se mettre en place :

$$PO_4^{-3} + H_2O \leftrightarrow HPO_4^{2-} + OH^-$$

C'est cet anion orthophosphate (HPO_4^{2-}), couramment appelé phosphate, qui est biodisponible pour les végétaux (Zapata, 2004).

II.B.2 - Zinc

De nombreux métaux sont naturellement présents dans l'eau de mer, leurs concentrations pouvant toutefois varier. Il a été depuis longtemps montré que la composition de l'eau varie d'une mer à une autre et même selon la localisation dans une même mer (Forchhammer, 1865). Même si la présence de nombreux éléments était suspectée, les méthodes d'analyses menant à leur découverte n'en permettaient pas la quantification. De nombreux progrès ont été réalisés, permettant maintenant la mesure des concentrations de ces éléments.

De manière générale, la biodisponibilité d'un métal (M), et donc sa potentielle toxicité, dépend de son état d'ionisation, les formes ioniques (M^{n+}) étant généralement plus biodisponibles que les formes liées (Hamelink *et al.*, 1994). Dans l'eau, la toxicité d'un métal dépend donc de l'équilibre entre sa forme liée à un ligand (ML) et sa forme ionique libre :

$$ML + n\ H^+ \rightarrow M^{n+} + H_nL$$

Cet équilibre varie dans l'eau de mer en fonction du pH, mais aussi en fonction de la salinité qui entraîne une plus forte toxicité lorsqu'elle diminue comme au niveau des estuaires (Hamelink *et al.*, 1994).

Le zinc est un oligoélément qui entre dans le fonctionnement de nombreuses enzymes ou protéines, interagit avec l'ADN (Helbecque & Hénichart, 1988; McCall *et al.*, 2000; Schwartz *et al.*, 2005). Il est donc essentiel à des processus physiologiques de nombreux êtres vivants, mais à concentration trop importante se révèle toxique pour ces mêmes organismes.

Il est un élément relativement commun de la croûte terrestre où son abondance est de 13 $mg.kg^{-1}$ (Fleischer, 1953). L'érosion est l'une des principales sources naturelles de zinc dans les

eaux. Selon l'INERIS sa concentration moyenne dans les eaux douces circulantes est de 10 µg.l^{-1} et elle est de 1 µg.l^{-1} dans l'eau de mer (Pichard *et al.*, 2005a). En Méditerranée en particulier, le transport par le vent de poussières sahariennes a aussi un rôle dans les apports en zinc d'origine naturelle (Guerzoni *et al.*, 1997; Pichard *et al.*, 2005a; Thuróczy *et al.*, 2010). Un lessivage des sols peut se produire et entraîner un apport ponctuel en zinc au niveau des côtes.

Les sources anthropiques de zinc sont nombreuses. En effet, le zinc est un métal qui présente de nombreuses utilisations dans des domaines aussi variés que la métallurgie (galvanisation), la construction (gouttières), l'énergie (batteries), la plasturgie (adjuvants de matières plastiques), les peintures (colorant blanc, antifouling), la santé publique (en dermatologie), l'agriculture (additifs à l'alimentation du bétail), le transport routier (pneumatiques), etc. (Pichard *et al.*, 2005a; Schwartz *et al.*, 2005). Toutes ces activités sont autant de sources pouvant relâcher du zinc dans l'environnement au cours de leur utilisation (érosion des gouttières et des surfaces galvanisées, usure des pneumatiques et des matières plastiques), ou en fin de vie (résidus pharmacologiques, lisiers, résidus d'incinération) (Pichard *et al.*, 2005a). Tous ces résidus sont susceptibles de contaminer les eaux usées, ou de charger les eaux de ruissellement lors des précipitations.

En Méditerranée, les concentrations de zinc soluble trouvées dans la littérature pour les zones côtières sont de l'ordre de 2 µg.l^{-1} (Fukai *et al.*, 1973; Fukai & Huynh-Ngoc, 1975, 1976), mais peuvent augmenter épisodiquement par exemple aux niveaux d'estuaires comme celui du Var lors de la fonte des neiges (Fukai *et al.*, 1975; Fukai & Huynh-Ngoc, 1976). La Table 2-2 présente une liste d'études effectuées en Méditerranée traitant du zinc dissous.

Table 2-2 : Liste d'études traitant du zinc dissous en Méditerranée.
*** : données d'après graphique.**

Date de prélèvement	Pays	Site	Zn dissous en µg.l^{-1}	Référence
1970-1971	Principauté de Monaco		0,7* - 5,5*	(Fukai *et al.*, 1973)
			1,4* - 3,0*	
1971-1972	France	Estuaire Var	2,3+/- 0,3 (SD)	(Fukai & Huynh-Ngoc, 1975)
			3,9+/- 0,9 (SD)	
1971-1972	France	Estuaire Var	5,5	(Fukai *et al.*, 1975)
			9,1	
			4	
			4,8	
			18,8	
1974	France-Monaco-Italie	Sète à Genova	0,8* - 4,0*	(Fukai & Huynh-Ngoc, 1976)
			1,0* - 10,0*	
			0,2* - 7,5*	
			0,0* - 7,3*	

Bien qu'anciennes, ces valeurs donnent un ordre d'idée du niveau de zinc en milieu marin dans la zone d'étude. Il est possible que dans certaines zones, en particulier à proximité de mouillage d'embarcations de plaisance, ces niveaux soient plus élevés du fait du développement de l'utilisation du zinc dans les peintures antifouling, zinc qui peut être relâché dans l'eau comme le montrent les résultats de l'étude de Karlsson et al. (Karlsson *et al.*, 2010) présentés dans la Table 2-3.

Table 2-3 : Concentrations de zinc relâchées dans l'eau de mer par des peintures antifouling, mesurées par Karlsson et al. (Karlsson *et al.*, 2010) après 14 jours.
Sur des boîtes de Pétri en plastique, une surface de 10 cm² a été peinte sur deux couches. Après 24 heures de séchage, les surfaces ont été immergées dans 1 litre d'eau de mer artificielle durant une heure avant le début de l'expérience. Elles ont ensuite été immergées dans 1 litre d'eau de mer naturelle durant 14 jours à 22 ± 2 °C.

Peinture	Zn ($\mu g.l^{-1}$)
Antifouling Olympic 86 951	317
Interspeed 617	102
Cruiser superior	256
Fabi	429
Micron Eco	727

La seule forme ionique stable du zinc est l'ion zinc (Zn^{2+}), c'est aussi la seule forme sous laquelle il interagit avec les systèmes biologiques (Schwartz *et al.*, 2005). Dans l'eau il se retrouve sous plusieurs formes tel l'ion hydraté ($Zn(H_2O)^{2+}$), les oxydes de zinc, ou complexé à des ligands organiques (Pichard *et al.*, 2005a).

Lors de nos travaux *in aquaria*, la source d'ion Zn^{2+} utilisée est un sel, le chlorure de zinc ($ZnCl_2$), qui se dissocie comme suit en milieu aqueux:

$$ZnCl_2 \rightarrow Zn^{2+} + 2\ Cl^-$$

Ce sel se présente à température ambiante (20 °C) sous la forme d'une poudre blanche extrêmement soluble dans l'eau.

II.B.3 - Témoins

Aucune donnée concernant une substance produisant de manière contrôlée une asymétrie des otolithes chez les poissons et en particulier chez *Dicentrarchus labrax* n'ayant été trouvée dans la littérature, seul un témoin négatif (eau de mer artificielle seule) est utilisé lors de nos expérimentations.

II.C - Conditions expérimentales

II.C.1 - Livraison

Pour ce type d'expédition, le matin de l'envoi, les poissons sont placés dans un réservoir souple de 20 litres remplis à moitié d'eau du bassin d'où proviennent les individus et gonflé à l'O_2. Ce réservoir est ensuite placé dans un caisson en polystyrène scellé à l'aide de ruban adhésif. Ce mode de conditionnement permet le transport de 1000 individus de 60 mg environ. Afin de minimiser le stress des animaux lié au transport, nous récupérions le réservoir directement à l'écloserie pour réduire à moins de 5 heures le temps passé par les poissons dans le colis. Ce choix a été fait suite à de nombreux problèmes de livraison par le transporteur agréé.

II.C.2 - Acclimatation

Suite à la livraison, les poissons dans leur eau de transport sont transférés dans deux bacs de 20 litres aérés chacun par un aérateur rectangulaire de 20 x 2 cm, avec un débit réglé de façon à ce que le courant n'emporte pas les poissons. Les bacs sont alors progressivement complétés avec de l'eau de mer artificielle, pour éviter un choc osmotique. Les poissons sont ensuite transférés dans les bacs d'expérimentation (10 l d'eau de mer artificielle) où ils sont maintenus/acclimatés pendant 5 jours avant de débuter l'expérimentation. Durant cette période, la moitié du volume d'eau des bacs est remplacée quotidiennement par de l'eau de mer artificielle provenant de la réserve d'eau. Un opérateur passe alors chaque matin pour enlever les poissons décédés et les remplacer par des poissons provenant de l'un des bacs "réserve" de 20 litres. Une seconde visite est effectuée chaque soir pour vérifier le bon fonctionnement des installations et nourrir les animaux.

II.C.3 - Préparation des aquariums

II.C.3.a - Choix de l'eau

Afin de limiter au maximum les variations des paramètres expérimentaux, le choix de travailler en eau de mer artificielle (EDM) s'est imposé. Pour ce faire, nous avons choisi des sels d'eau de mer (Instant Ocean, composition en Annexe I) dilués dans de l'eau de ville préalablement épurée à l'aide d'une filtration en cinq étapes, présentée ci-après, via un osmoseur (PurePro FS401).

L'eau traverse un premier filtre en polypropylène de 5 micromètres de maille pour retenir les sédiments. Elle passe ensuite un filtre à granules de charbon actif retenant une partie des

contaminants chimiques. S'ensuit un passage sur un second filtre à charbon actif, cette fois sous la forme d'un bloc présentant une porosité de 5 micromètres, qui récupère les particules possiblement produites par le précédent et peaufine l'élimination des éventuels contaminants chimiques. Le filtre suivant est une membrane d'osmose inverse retenant les particules d'une taille supérieure à 10^{-4} micromètres (fiche technique du fabricant contenant les taux d'élimination de 105 substances disponible à l'Annexe II). Enfin, l'eau traverse une résine de déminéralisation (composée d'une résine échangeuse de cations et d'une résine échangeuse d'anions) prévue pour capturer les derniers ions encore présents au sortir de la membrane d'osmose inverse. Après ce traitement, l'eau n'est utilisée pour préparer l'eau de mer que si le total des solides dissous est inférieur à 5 ppm.

II.C.3.b - Aération des aquariums

L'ensemble des bacs est alimenté en air par une pompe unique (Air Pump 8.000) fournissant un débit de 70 litres par minute. Afin de répartir ce flux d'air de manière équilibrée et raisonnable, un répartiteur à dix sorties est monté en sortie de pompe. Pour la dernière et plus complète de nos installations, 8 des sorties sont utilisées lors de nos expérimentations :

- 1 pour le réservoir de 280 litres,
- 1 pour le réservoir de 100 litres,
- 1 pour les bacs "réserves" utilisés en début d'expérience,
- chacune des 5 dernières sorties alimente un groupe de 3 bacs de 10 litres.

Toujours afin de réguler les débits, chaque tuyau alimentant un bac est équipé d'un robinet avant le flexible raccordant l'aérateur (rectangulaire, 10 x 2 cm) du bac. Les flexibles utilisés sont des tuyaux de silicone translucides d'aquariophilie de 6 mm de diamètre intérieur.

II.C.3.c - Distribution des polluants sélectionnés

L'évolution des installations d'exposition *in aquaria* est présentée dans l'Annexe III.

Dans chaque bac, la concentration du polluant désirée est initialement atteinte en ajoutant un volume d'une solution stock de ce polluant. Cette concentration est ensuite maintenue lors des renouvellements d'eau par l'utilisation d'une solution de même concentration que celle de chaque bac. Les concentrations utilisées dépendant du contaminant et de l'expérimentation, ces dernières seront introduites dans la présentation de chacune des expérimentations.

II.C.4 - Euthanasie des poissons

Deux méthodes d'euthanasie des poissons en fin d'expérimentation par des anesthésiques ont été utilisées dans ce travail. Une présentation des différentes techniques d'anesthésie, entre autres pour les poissons, peut être consultée dans "*Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*" de Lindsay G. Ross et Barbara Ross (Ross & Ross, 2008b).

II.C.4.a - Eugénol

L'eugénol (2-méthoxy-4-prop-2-ényl-phénol), est le principe actif représentant 70 à 90% de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* (giroflier[4]). Il est surtout connus du grand public pour son utilisation comme anesthésique local en dentisterie (Ross & Ross, 2008a). Etant le constituant principal de l'huile essentielle de giroflier, classique en aromathérapie, il présente l'intérêt majeur d'être très facilement accessible à un niveau de pureté pharmaceutique dans la majorité des officines et pour un prix raisonnable.

Son utilisation est très simple : s'agissant d'une huile, la préparation d'une solution stock dans de l'éthanol permet d'en améliorer la diffusion dans l'eau de mer. Lors des différentes utilisations de cet anesthésique, une solution à 10% a été choisie. Cette solution semble être utilisable jusqu'à 3 mois après préparation et stockage à température ambiante (Ross & Ross, 2008a). Cependant, afin d'en limiter la dégradation, le produit pur ainsi que les solutions stocks préparées ont été conservées à 4 °C à l'abri de la lumière.

Pour *D. labrax*, les doses indiquées dans la littérature pour atteindre le stade III (perte des réflexes et non réponse à des stimuli extérieurs forts) en moins de 3 minutes correspondent à 40 $mg.l^{-1}$ (García-Gómez *et al.*, 2002; Mylonas *et al.*, 2005). Il est conseillé d'utiliser pour l'euthanasie une concentration 5 à 10 fois supérieure à la concentration anesthésique pour une espèce donnée (Neiffer & Stamper, 2009). Une solution à 400 $mg.l^{-1}$ pourrait donc être suffisante. La solution que nous avons utilisée lors de l'euthanasie est de 2 $g.l^{-1}$, soit 5 fois cette valeur. Après 3 minutes dans cette solution, les poissons sont disposés sur un lit de glace avant de descendre la température à -20 °C.

II.C.4.b - MS222

[4] *Peut-être rencontré sous l'un des noms suivants :*
- *Caryophyllus aromaticus L., 1753*
- *Eugenia aromatica (L.) Baill., 1876*
- *Eugenia caryophyllata Thunb., 1788*
- *Eugenia caryophyllus Bullock & S.G. Harrison, 1958*
- *Myrtus caryophyllus Spreng., 1825*

Le MS222 aussi appelé Tricaïne (éthyl 3-aminobenzoate méthanesulfonate) est un anesthésique de synthèse se présentant à température ambiante (20 °C) sous la forme d'une poudre blanche soluble jusqu'à 110 g.l^{-1}, aussi bien dans l'eau douce que dans l'eau de mer (Ross & Ross, 2008a; Topic Popovic *et al.*, 2012), ne se trouvant que chez des distributeurs spécialisés (comme Sigma-Aldrich).

Chez *D. labrax*, pour des larves de 7 mm de long, la dose anesthésique est de 70 mg.l^{-1} (Chatain & Corrao, 1992; Marques Pereira, 2010; Topic Popovic *et al.*, 2012) et une dose minimale de 250 mg.l^{-1} est recommandée pour l'euthanasie des poissons (Topic Popovic *et al.*, 2012). Pour l'euthanasie, une concentration de 5 à 10 fois la concentration anesthésique doit être utilisée (Neiffer & Stamper, 2009), soit entre 350 et 700 mg.l^{-1}. Il est à noter que bien que permettant un rétablissement plus rapide du poisson, ce qui n'est pas ici recherché, ce produit est aussi plus lent à agir que l'eugénol (Neiffer & Stamper, 2009).

Ce produit n'a été utilisé qu'une seule fois et placé directement dans les bacs. La solution utilisée lors de l'euthanasie était à 500 mg.l^{-1}. Après 30 minutes dans cette solution, les poissons ont été placés sur un lit de glace avant de descendre la température à -20 °C.

II.D - Traitement des échantillons

Lors des expérimentations *in aquaria* (ainsi que lors des campagnes *in situ*) un grand nombre d'échantillons a été produit. Le traitement de l'ensemble de ces échantillons n'étant techniquement pas possible immédiatement après récolte, des stratégies de conservation ont été définies. Trois étapes clefs sont ici à considérer : la préparation des échantillons, leur transport et leur stockage. Puis le traitement des échantillons a été effectué.

II.D.1 - Préparation et stockage

II.D.1.a - Préparation

Le premier objectif est de préparer le stockage des poissons euthanasiés pour en optimiser l'analyse à venir. Pour cela il est nécessaire de s'imposer quelques contraintes. A chaque contrainte a été apportée une réponse technique :

a) respecter l'intégrité physique des individus pour ne pas fausser leur mesure : utilisation d'une bande de papier d'aluminium alimentaire. Découper une bande d'une largeur correspondant à environ trois fois la longueur totale estimée des individus, sur une longueur de 5 cm plus 1 cm par individu à conserver, permet de les séparer suffisamment

les uns des autres et de former des replis pour fermer la bande. La bande, préalablement pré-pliée lors de la découpe, peut être refermée en recouvrant tous les individus du groupe de deux rabats (Figure 2-4).

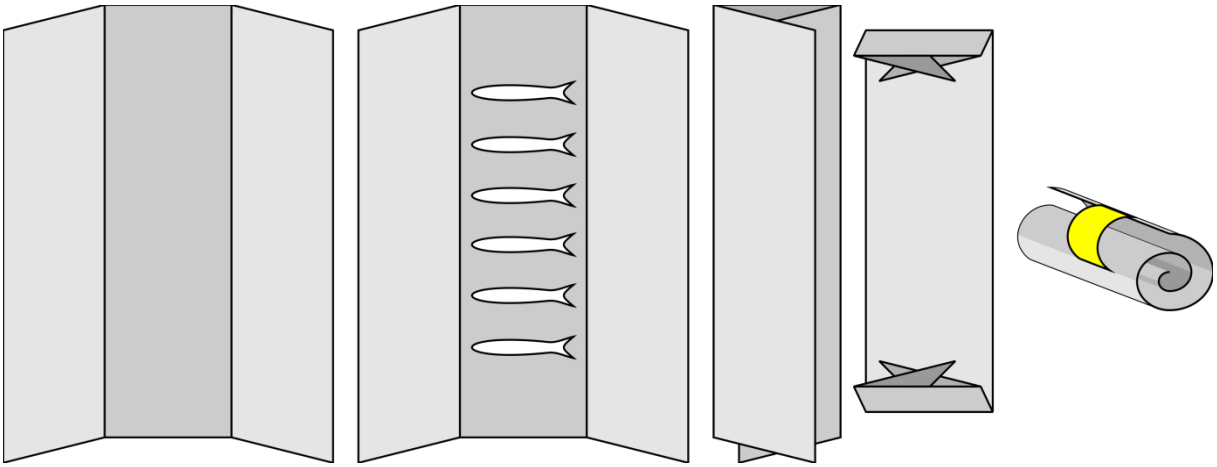


Figure 2-4 : Préparation d'un échantillon d'expérimentation *in aquaria* pour transport et conservation.
De gauche à droite : bande d'aluminium découpée et pré pliée ; poissons espacés de 1 cm en laissant 2,5 cm au minimum aux extrémités de la bande ; rabat des côtés pré-pliés de la bande ; fermeture de la bande par pliage sur 1 cm des extrémités ; bande enroulée sur elle-même et scellée avec un ruban adhésif respectant le code couleur de l'échantillon et annotation de ce ruban adhésif.

b) pouvoir accéder rapidement et de manière indépendante à chaque échantillon : espacer les poissons de 1 cm. Une fois refermée, la bande est délicatement roulée pour en réduire l'encombrement sans écraser ou déplacer les individus qu'elle contient. Un morceau de ruban adhésif est posé pour la maintenir fermée (Figure 2-4).

c) permettre l'identification de l'origine des échantillons : l'utilisation de ruban adhésif coloré permet d'identifier chaque condition expérimentale via un code couleur. Des informations complémentaires y sont notées pour faciliter l'identification des différents échantillons (traitement, bac, nombre d'individus, date).

d) éviter toute dégradation des échantillons : le froid est utilisé comme retardateur. Toutes ces étapes sont réalisées dans une pièce maintenue à 16 °C. L'étape de conditionnement demande normalement environ 5 mn pour une quarantaine d'individus. Le rouleau est ensuite placé dans une boîte isotherme contenant de la glace pilée et des accumulateurs de froid préalablement réfrigérés à -20°C afin d'être ramenés au laboratoire.

II.D.1.b - Stockage

La méthode de stockage employée doit répondre à plusieurs critères. Certains sont très clairs, comme le bon maintien dans le temps des échantillons ; d'autres moins évidents, comme la facilité de dissection après stockage ; ou d'autres encore d'ordre économique,

comme le coût de mise en œuvre et de maintien de la technique. Enfin il est important de tenir compte des risques liés à l'hygiène et à la sécurité. Plusieurs options existent, la Table 2-4 résumant assez fidèlement les caractéristiques liées à chaque méthode.

Table 2-4 : Comparaison de différentes techniques de conservation d'échantillons.
Chaque critère validé obtient un score de 1, la colonne "Score" correspond à la somme des résultats pour chacun des critères.

	Conservation	Dissection	Coût	H&S	Score
Azote liquide	1	1	0	0	**2**
-20 °C	1	1	1	1	**4**
Ethanol 70%	1	0	0	1	**2**
Formaldéhyde	1	1	0	0	**2**
Ethanol 70%, 4 °C	1	0	0	1	**2**

La conservation à -20 °C autorisant une bonne conservation, une dissection aisée après décongélation, ne nécessitant pas d'équipement spécial et ne présentant pas de risque particulier, a été choisie.

II.D.2 - Dissection

Comme expliqué précédemment, les otolithes sont situés au sein du système labyrinthique, lui-même situé au centre de la tête du poisson. Une étape de dissection est donc nécessaire pour les récupérer.

II.D.2.a - Matériel

La petite taille des individus conduit à utiliser le matériel suivant : une balance de précision, un pied à coulisse, une loupe binoculaire 10 x – 50 x, deux paires de pinces Dumont droite type n °5 à pointe de 0,1 mm, une aiguille d'entomologie de 0,1 mm de diamètre montée sur un support, une boîte de Pétri en plastique de 10 cm de diamètre, une pipette Pasteur de 3,5 ml en PE-LD, un bécher de 5 ml, une pissette d'eau distillée, du papier absorbant, une lame de microscopie, une fiche de suivi de dissection (date, expérimentateur, identification du poisson, tailles totale et standard, poids, informations supplémentaires) avec un crayon.

II.D.2.b - Préparation

Avant de commencer la dissection, le poisson est pesé et mesuré. Sa mesure est effectuée à l'aide d'un pied à coulisse placé sous la boîte de Pétri, en posant le poisson sur le flanc, son bon alignement étant vérifié et sa nageoire caudale disposée dans une position de nage naturelle. Une fois mesuré, le poisson est pesé à l'aide d'une balance précise au milligramme.

Les données sont transcrites sur la feuille de suivi de dissection, puis le poisson est placé au centre d'une boîte de Pétri et 3 gouttes d'eau distillée déposées à proximité à l'aide d'une

pipette Pasteur (ces gouttes serviront en fin de dissection pour nettoyer les otolithes de possibles tissus résiduels).

Il est alors possible de procéder à l'extraction des otolithes en passant "par les branchies". Cette technique présente l'intérêt, quand bien maîtrisée, de ne pas endommager l'aspect extérieur du poisson (et donc en cas d'extraction lors d'une campagne de prélèvement en association avec des pêcheurs, de préserver la valeur marchande des individus échantillonnés). Sur de petits individus cette technique est plus rapide et efficace que celle passant par le haut du crâne : passer "par les branchies" évite d'abîmer l'encéphale du poisson et de passer plusieurs minutes à chercher les otolithes dans une "masse" indistincte.

Pour procéder à l'extraction, le poisson est positionné sur le flanc, l'opercule soulevé à l'aide d'une pince, puis les branchies écartées pour révéler la base du crâne ; sur de jeunes individus, l'otolithe (*sagitta* dans ce travail) est alors visible par transparence. Il suffit d'ouvrir la loge et d'en extraire l'otolithe (Figure 2-5). Une fois le premier otolithe récupéré, deux méthodes sont possibles :

- soit retourner le poisson sur l'autre flanc et répéter l'opération,
- soit attraper l'autre otolithe en passant par la première incision, en prenant le risque d'endommager l'encéphale.

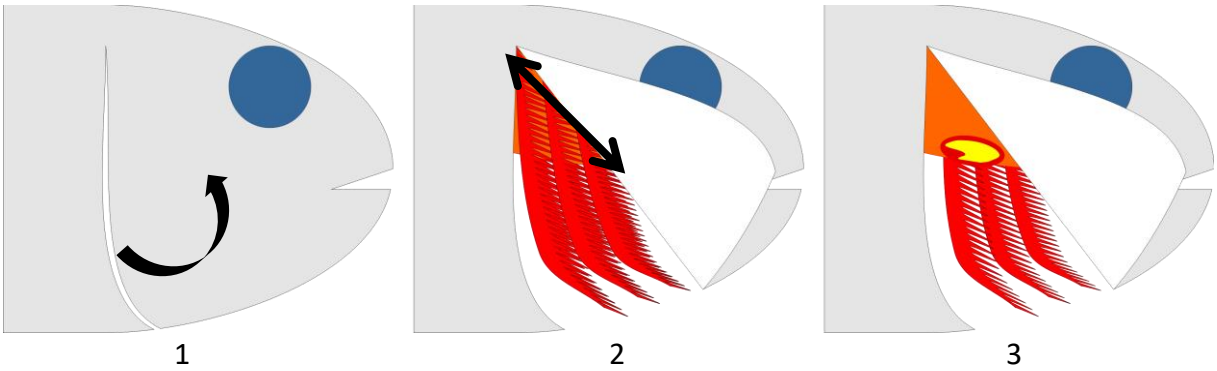


Figure 2-5 : Accès aux otolithes par dissection par la base du crâne.
1) Soulever l'opercule pour accéder aux branchies ; 2) éliminer les branchies pour accéder à la base du crâne ; 3) ouvrir les loges des otolithes pour les extraire.

II.D.2.c - Suite de la dissection

Les otolithes extraits doivent être placés dans l'une des gouttes d'eau distillée préalablement préparées, pour les débarrasser des résidus de tissus adhérents. Cette opération est exécutée à l'aide d'une aiguille d'entomologie et d'une pince Dumont. Une fois les résidus de tissus retirés, les otolithes sont placés dans la seconde goutte pour un premier

rinçage des particules transportées par capillarité depuis la première goutte. Ils sont ensuite placés dans la dernière goutte pour un ultime rinçage. Cette étape terminée, les otolithes sont placés sur une lame de microscopie pour sécher puis être photographiés.

En cas de persistance de résidus de tissus, un nettoyage chimique mis au point durant cette thèse a pu être utilisé. Cette technique consiste en trois étapes. D'abord nous faisons une immersion de la paire de *sagittae* dans un tube contenant 1 ml de soude à 1N durant 4 heures. Puis nous procédons à deux rinçages dans une goutte d'eau Milli-Q. Enfin nous réalisons une dernière immersion dans un tube contenant 1 ml d'eau Milli-Q durant 4 heures, avant séchage. Cette technique de nettoyage d'otolithes, validée aussi sur un autre modèle, a fait l'objet d'une publication (Vandenbussche *et al.*, 2017).

II.D.3 - Prises de vue

Il s'agit ici de la première véritable observation des otolithes à fort grossissement, c'est d'ailleurs à ce moment qu'il est possible de juger du résultat de la dissection et de décider de procéder à un nouveau nettoyage de l'otolithe s'il reste du tissu adhérant ou s'il y a des poussières. En effet, épais et de consistance solide par rapport à leur petite taille, les objets étudiés ne permettent pas l'utilisation d'une lamelle de microscopie. L'atmosphère poussiéreuse impose donc une vérification de l'état des lames et de fréquents nettoyages.

II.D.3.a - Matériel

Les prises de vues s'effectuant sur de petits objets, l'utilisation d'un appareil à fort grossissement et à grande stabilité lors de la mise au point est nécessaire. L'utilisation d'une loupe binoculaire puissante aurait pu être une solution. Cependant nous avons pu constater que lors de la mise au point, effectuée directement sur la tête de l'appareil, celle-ci subit un léger déplacement. Ce déplacement, qui n'est pas gênant à faible grossissement, où la profondeur de champ est importante, suffit à faire sortir l'objet du champ à fort grossissement (Chapitre 2 -II.F.1.b - Quantification de l'erreur de mesure). Les prises de vue d'objets de dimensions inférieures à 1,5 mm ont donc toutes été effectuées avec un microscope Zeiss AxioScope A1, à l'aide d'un objectif 10 x et d'un boitier Canon EOS 550D permettant l'acquisition d'image ayant une résolution de 5184 x 3456 pixels.

Pour quelques objets de plus grandes dimensions, une loupe trinoculaire Leica M80 équipée d'une caméra numérique QImaging Micropublisher 5.0 RTV permettant l'acquisition d'images de résolution 2560 x 1920 pixels a été utilisée. Ces quelques observations sous loupe

ont été réalisées dans le cadre d'essais qui n'ont par la suite pas été retenus (voir expérimentation $ZnCl_2$, gamme de concentrations).

II.D.3.b - Inclusion sous résine

Quelques essais ont été réalisés à l'aide de différentes résines.

Les résines époxy bi-composantes présentent des caractéristiques intéressantes comme une très bonne résistance mécanique et la possibilité d'effectuer facilement des opérations comme la découpe et le polissage d'otolithes (Secor *et al.*, 1992). Même si ces activités présentent un grand attrait pour accéder à la structure interne des otolithes, elles ne concernent pas ce travail. Ces résines présentent cependant plusieurs défauts gênants, liés à leur nature de bi-composantes : elles supposent la préparation de petites quantités de mélange résine/durcisseur, avec un temps de prise rapide ; des bulles susceptibles de gêner l'observation apparaissent lors du mélange de la résine et du durcisseur ; une grande partie du produit est perdu par rapport aux faibles quantités réellement utilisées.

D'autres résines bi-composantes, comme les résines polyuréthanes de type Crystal Clear, offrent une bonne transparence à la lumière visible, mais ont le défaut d'une plus grande toxicité.

Au final, notre choix s'est porté sur des résines de type vernis à ongle transparent. Après avoir testé différentes marques, le vernis transparent n°00 Miss Helen (Monoprix) a montré la meilleure tenue dans le temps (ni jaunissement ni turbidité au bout de 3 ans). Cette résine a l'avantage de se trouver dans le commerce et de se retirer facilement à l'aide d'un solvant adapté (d'usage, l'acétone). Le stockage en petit contenant, l'utilisation directe, sans mélange préalable, et la facilité de pose à l'aide l'une seringue type insuline sont des points forts. Ces qualités rendent son utilisation aisée et limitent les pertes de produit lors de son application.

Toutefois, nos essais ont mis en évidence les limites de l'utilisation de vernis qui ne fonctionne convenablement (pas d'artéfact) que dans le cadre de l'observation d'objets de petites dimensions, c'est-à-dire < 0,25 mm dans le cadre de cette expérimentation. En effet, le trajet de la lumière à travers la résine est modifié. Si la surface d'entrée et la surface de sortie ne sont pas planes et perpendiculaires au faisceau, un artéfact peut être observé, comme le montre la Figure 2-6 .

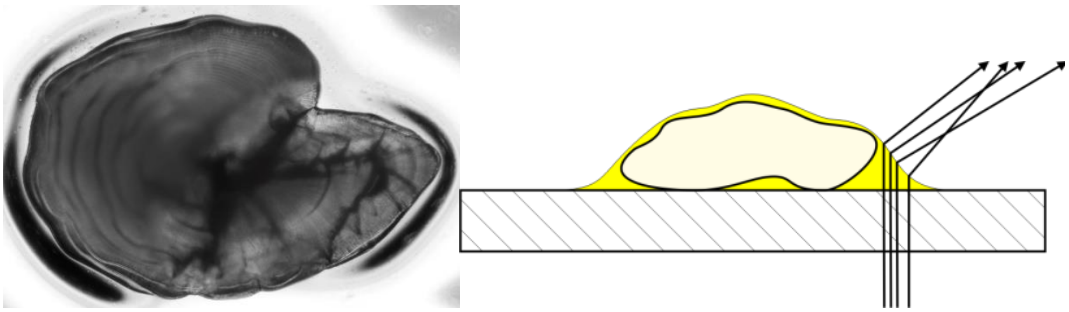


Figure 2-6 : Photographie d'un *sagitta* droit de *Dicentrarchus labrax* avec artéfact lié à la résine et schéma explicatif. Objet épais inclus dans une résine à forte teneur en solvant type vernis à ongles ; lorsque le solvant s'évapore le volume diminue jusqu'à ne laisser que la résine qui forme alors une pellicule qui suit les contours de l'objet et dévie le faisceau la traversant selon des angles croissants et décroissants, créant ainsi des zones plus sombres et des zones plus claires, comme le montre la photographie.

Il est possible de contrer cet effet en augmentant l'épaisseur de résine pour faire en sorte d'aplanir la surface, ce qui est facilement réalisable sur de petits objets mais difficile sur de plus gros.

II.D.3.c - Élimination de la résine pour de nouvelles photographies

Vu la qualité insuffisante d'une partie des photographies obtenues en vernis, les otolithes ont donc été nettoyés avec de l'acétone. Pour ce faire il faut, dans une boite de Pétri en verre, verser quelques gouttes d'acétone sur le dessus des otolithes à l'aide d'une pipette et continuer jusqu'à libération. En cas d'épaisseur importante de vernis, un léger courant est créé en inclinant la lame et en faisant ruisseler le solvant.

Les otolithes sont alors placés sur une lame propre pour vérification de l'élimination totale du vernis, à l'aide d'une loupe binoculaire. En effet l'aspect de petite pellicule blanchâtre se décollant de la surface rend les potentiels résidus clairement identifiables. Une goutte supplémentaire d'acétone suffit à les éliminer.

La photographie de l'échantillon (Figure 2-7) constitue la dernière étape de paillasse. Les étapes qui vont maintenant être présentées sont toutes réalisées sur un poste informatique.

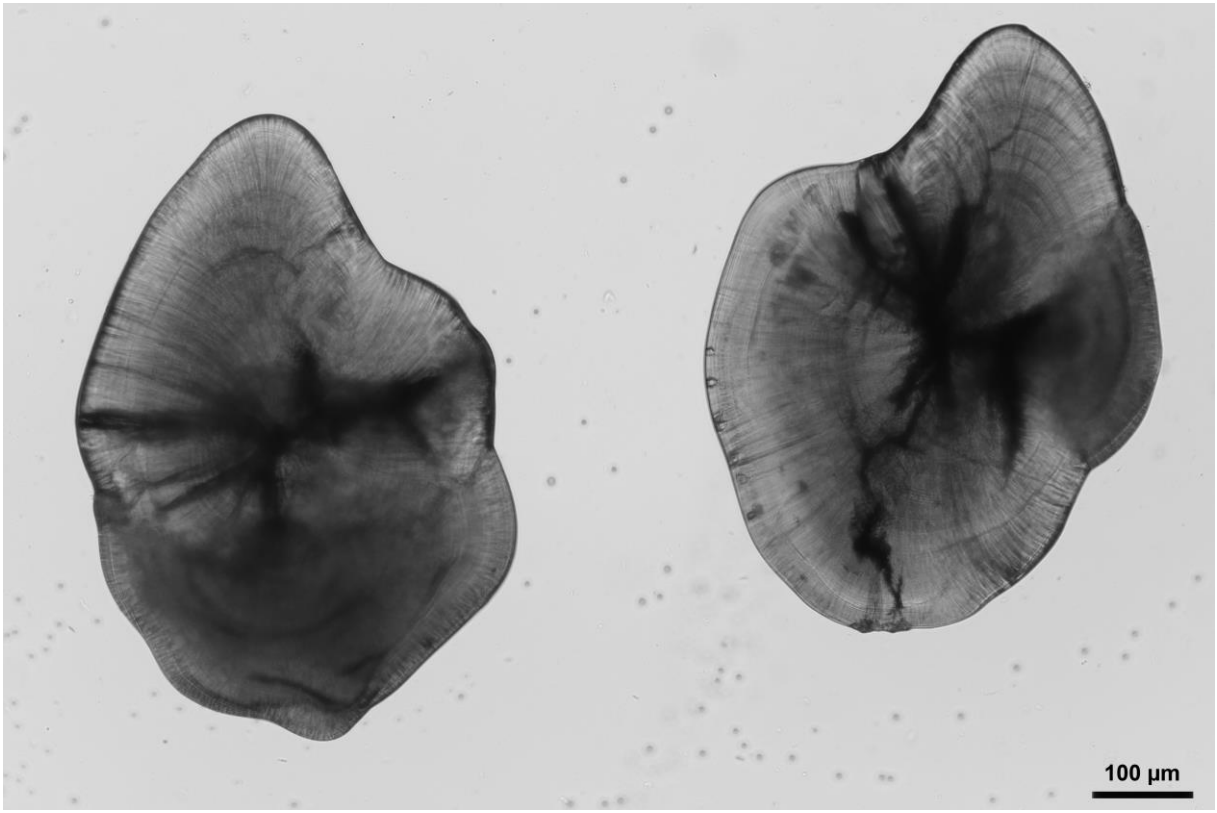


Figure 2-7 : Photographie d'une paire de *sagittae* de *Dicentrarchus labrax* âgé de 42 jours.

II.E - Analyse des échantillons

II.E.1 - Morphologie des individus

II.E.1.a - Tailles et poids

Lors de la dissection, pour chaque individu, les informations de tailles (totale et standard) ainsi que de poids ont été systématiquement relevées. La longueur totale est définie comme la distance séparant l'extrémité de la tête et l'extrémité de la nageoire caudale, la longueur standard comme la distance séparant l'extrémité de la tête et la dernière vertèbre (Figure 2-8). Ces deux longueurs se complètent, la nageoire caudale pouvant être facilement impactée par l'environnement comme cela sera présenté plus tard dans la partie résultats *In aquaria*. Ces données permettent d'effectuer de premières comparaisons entre les groupes de poissons et peuvent conduire à établir une relation entre la taille et l'asymétrie (résultats évoqués plus loin).

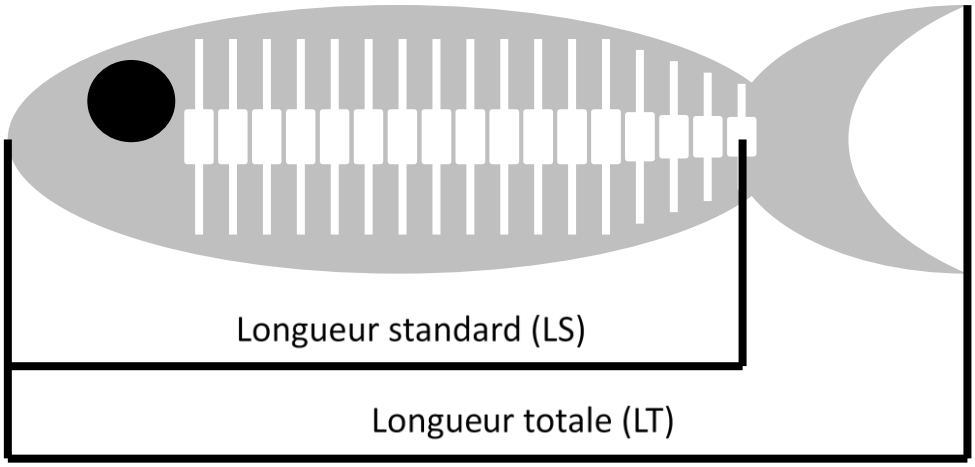


Figure 2-8 : Schéma présentant les deux longueurs utilisées pour mesurer les individus. En blanc : vertèbre de l'animal.

II.E.1.b - Indice de condition

A partir du poids et de la longueur standard, il est possible de calculer un indice de condition classique, l'indice dit de Fulton (K). Cet indice se calcule en divisant le poids en grammes de l'individu par sa longueur en centimètres au cube :

$$K = \frac{Poids\ (g)}{(Longueur\ (cm))^3}$$

Cet indice rapporte le poids mesuré du poisson à son poids théorique qui correspond au volume d'un cube dont le côté est la longueur du poisson (Bolger & Connolly, 1989).

Cet indice rappelle l'IMC[5] chez l'homme :

$$IMC = \frac{Poids\ (kg)}{(Taille\ (m))^2}$$

Ces indices donnent une indication de l'état des réserves énergétiques de l'individu. D'après ce principe, plus la masse d'un individu est importante par rapport à sa taille, meilleures seront ses réserves énergétiques et donc ses chances de survie et de reproduction, désignées ici par le terme *fitness*.

Tout comme l'IMC, l'indice de condition K considère la croissance des individus comme isométrique (Bolger & Connolly, 1989). En effet, pour obtenir un résultat constant tout au long de la croissance il est nécessaire que le poids soit à tout moment proportionnel à la racine carrée (IMC) ou cubique (K) de la taille, ce qui n'est pas toujours vrai. Pour tenir compte du

[5] Indice de Masse Corporelle, en anglais BMI : Body Mass Index

fait que la croissance n'est pas isométrique, l'IMC applique des abaques différents selon que les individus se trouvent en période de croissance ou l'ont terminée.

Mais dans le cadre de ces travaux sur *D.* labrax où les individus étudiés ont le même âge, l'indice K peut être intéressant pour de premières analyses de comparaison entre les différents groupes. Cependant, dans le cas de traitements conduisant à une forte mortalité, cet indice, qui ne concerne que les poissons ayant survécu, n'est pas pertinent pour rendre compte de la condition physique de l'ensemble des individus. De plus, de par sa méthode de calcul, cet indice sera totalement biaisé dans le cas où la croissance des poissons ralentit fortement, par exemple suite à l'exposition à un contaminant. Dans ce cas, s'ils ne grandissent pas mais continuent à prendre même faiblement du poids, les individus de cette condition présenteront des valeurs de K plus élevées que les poissons ayant grandi normalement, même si leur taille et leur poids indiquent qu'ils sont en moins bonne "condition physique".

II.E.2 - Préparation des images avant leur analyse

Dans le cadre de la mise en place de l'automatisation de nos mesures, une standardisation des photographies s'est imposée, les traitements utilisés ne déformant évidemment pas les objets.

II.E.2.a - Logiciels

La plupart des opérations présentées ici peuvent être effectuées sur des logiciels libres comme GIMP[6] ou des applications intégrées à l'OS comme Paint© dans Microsoft Windows©. J'utilise le logiciel Corel PHOTO-PAINT X4© (Version 14.0.0.653) de Corel Corporation© et son module de traitement par lot pour appliquer le même traitement à l'ensemble des photographies d'une même expérimentation.

II.E.2.b - Standardisation des images

Quatre types de traitements d'image sont appliqués pour standardiser les photographies et aboutir à leur mesure automatisée. En effet selon l'opérateur et ses habitudes lors de la prise de photographies, les objets peuvent ne pas se trouver orientés selon le standard, ce qui mène à un traitement *a posteriori* pour les y conformer.

[6] Logiciel sous GNU General Public License disponible à l'adresse suivante : https: //www.gimp.org/

Repositionnement

Opération la plus courante, elle consiste à placer les objets de manière standardisée sur la photographie. L'objet est simplement déplacé avec son environnement immédiat vers une nouvelle localisation (Figure 2-9).

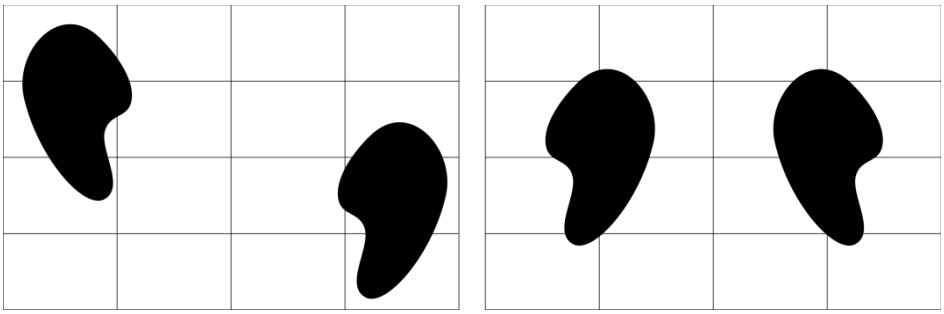


Figure 2-9 : Standardisation par repositionnement des otolithes *a posteriori* sur une photographie. Gauche : avant opération ; droite : après opération.

Pivot

Cette opération consiste à faire pivoter autour d'un axe la zone de l'image sélectionnée pour arriver à un positionnement standard des objets (Figure 2-10). Bien que pouvant légèrement modifier la valeur en pixels du périmètre de l'objet, cette opération est indispensable pour mesurer précisément les deux côtés du plus petit rectangle incluant l'objet (page 44, ImageJ), ces derniers changeant fortement avec l'angle de l'objet. Cette opération peut aussi être réalisée directement sous ImageJ avant d'effectuer la mesure.

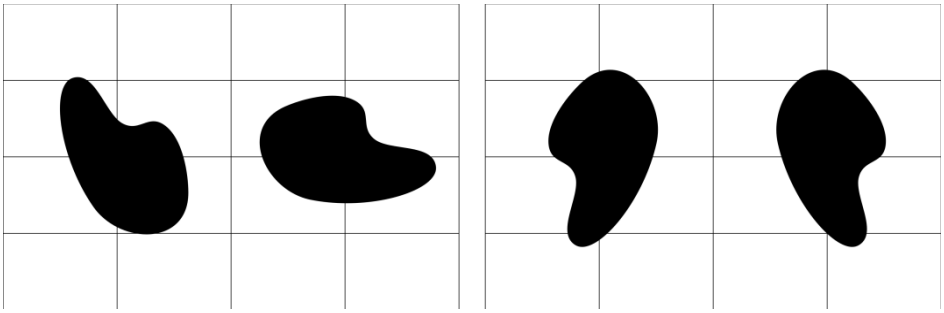


Figure 2-10 : Standardisation en pivotant les otolithes *a posteriori* sur une photographie. Gauche : avant opération ; droite : après opération.

Augmentation du contraste

C'est l'étape incontournable de l'analyse de forme. Poussée à l'extrême elle consiste à binariser l'image (Figure 2-11), c'est-à-dire à réduire les teintes de l'image à deux valeurs : 0 et 1 (classiquement noir et blanc). Elle est directement intégrée à certains logiciels comme ImageJ et constitue une étape obligatoire pour d'autres comme Shape (Iwata & Ukai, 2002). La méthode de calcul d'ImageJ pour cette opération peut cependant générer des difficultés en cas de transparence d'une partie de l'objet (dans ce cas une modification du contraste de

l'ensemble des photographies d'une série pour corriger le problème avant utilisation d'ImageJ s'avère utile).

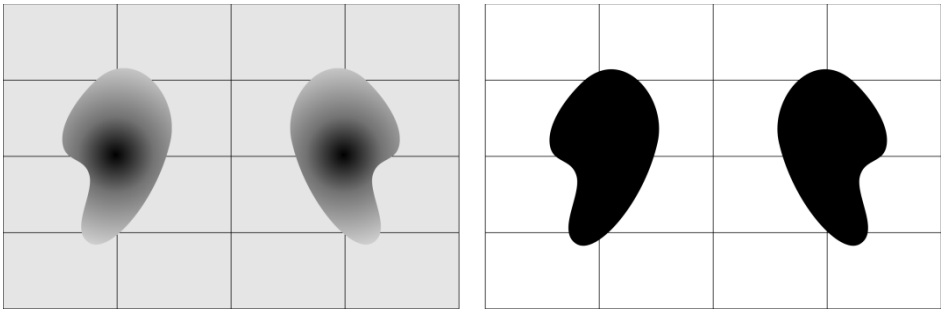


Figure 2-11 : Standardisation par augmentation du contraste des otolithes *a posteriori* sur une photographie. Gauche : avant opération ; droite : après opération.

Retournement en miroir

Dans la comparaison entre l'otolithe gauche et l'otolithe droit, cette technique s'avère essentielle. Elle consiste à remplacer l'un des otolithes (toujours celui du même côté pour une série) par son image dans un miroir (Figure 2-12).

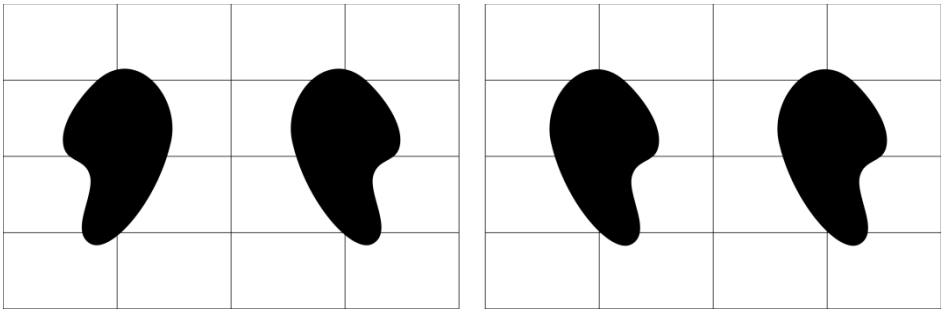


Figure 2-12 : Standardisation par retournement en miroir de l'otolithe gauche *a posteriori* sur une photographie. Gauche : avant opération ; droite : après opération.

II.E.3 - Traitement d'images

II.E.3.a - Logiciels

ImageJ

ImageJ 1.50b (Rasband, 2012) est un logiciel du domaine public développé par Wayne Rasband, du *National Institutes of Health* (USA). C'est un programme qui, comme son sous-titre "*Image Processing and Analysis in Java*" l'indique, est écrit en langage Java et assure le traitement et l'analyse d'images à des fins scientifiques[7]. De nombreuses analyses peuvent être facilement effectuées grâce à ce logiciel qui peut être agrémenté de plugins créés par les différents utilisateurs de ce programme.

Six paramètres morphométriques des otolithes ont été systématiquement mesurés.

[7] Voir http: //imagej.net/Welcome et https: //imagej.nih.gov/ij/ pour les avancées et évolutions du projet.

Lors de l'essai de faisabilité, toute première expérimentation *in aquaria* réalisée dans cette thèse, le détourage des objets avait été réalisé à l'aide d'ellipses superposées les unes aux autres. Les résultats obtenus par les deux expérimentateurs ayant utilisé simultanément cette technique étaient comparables pour 3 paramètres mais montraient des écarts conséquents pour le périmètre. Par la suite la méthode a été standardisée et automatisée. Le script rédigé pour procéder à des mesures automatisées est disponible dans l'Annexe IV.

SHAPE

SHAPE est une suite de logiciels (package) gratuite, développée et mise à disposition par Hiroyoshi Iwata (Iwata & Ukai, 2002) pour la communauté scientifique[8]. Cette suite permet, à partir d'images au format BMP, d'extraire le contour des objets sur chaque image et de le recoder sous la forme d'une chaîne de codes, de réorienter et centrer les contours de plusieurs objets, d'en calculer les descripteurs elliptiques de Fourier, d'effectuer une analyse en composantes principales basée sur ces descripteurs et de produire une sortie graphique des variations de formes associées à chaque composante.

Pour le présent travail, l'utilisation de cette suite logicielle s'est limitée à l'utilisation du premier module "ChainCoder version 1.3a" afin d'obtenir l'information du contour de l'objet sous la forme d'une chaîne de codes.

R, Momocs et l'interphase RStudio

R[9] est un logiciel libre sous licence GNU permettant la réalisation de nombreux calculs et statistiques. Il est édité par la "R Foundation" et possède une communauté d'utilisateurs très active produisant de nombreux "packages" adaptés à des problèmes spécifiques, comme le package Momocs de Vincent Bonhomme (Bonhomme *et al.*, 2014) qui permet le maniement de données morphométriques telles que les chaînes de codes sous R.

RStudio[10] est un environnement de développement intégré open source sous licence AGPL (Affero General Public License) qui est développé par "RStudio Inc.". Il s'agit d'un environnement de travail facilitant l'utilisation de R.

[8] Package et documentation à l'adresse suivante : http: //lbm.ab.a.u-tokyo.ac.jp/~iwata/shape/
[9] Disponible sur le site de la fondation R : https: //www.r-project.org/
[10] Disponible sur le site de l'éditeur : https: //www.rstudio.com/

II.E.3.b - Analyses

Analyses avec ImageJ

Avec ce logiciel, six paramètres morphométriques ont été mesurés pour chaque otolithe (Kristoffersen & Magoulas, 2009) (Figure 2-13) :

- l'aire,
- le périmètre,
- le grand et le petit diamètres de la *"best fit ellipse"* définie comme l'ellipse ayant mêmes aire, orientation et centroïde que l'otolithe (Ferreia & Rasband, 2012) (l'angle de cette ellipse correspond à l'angle entre son axe principal et l'axe x de l'image),
- la longueur et la largeur du plus petit rectangle intégrant l'otolithe (Ferreia & Rasband, 2012), les côtés de ce rectangle étant parallèles aux bords de l'image.

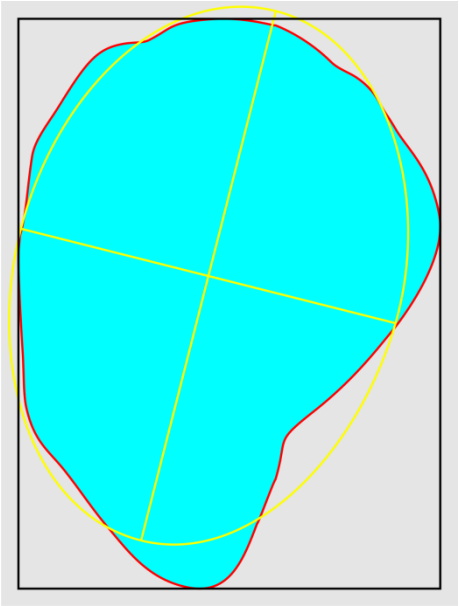


Figure 2-13 : Représentation graphique des paramètres d'un otolithe mesurés sous ImageJ. Cyan : aire ; rouge : périmètre ; jaune : ellipse la mieux adaptée et ses diamètres ; noir : côtés du plus petit rectangle intégrant l'objet.

Pour chaque paire d'otolithes, les mesures respectent la démarche suivante :

1) l'échelle de l'image est fixée pour la série de photographies à comparer (Set Scale),
2) à l'aide du module *Brightness/Contrast* les valeurs d'entrée et de sortie sont fixées à la moitié (256/2 = 128) pour binariser l'image,
3) l'otolithe gauche est sélectionné une première fois et son angle mesuré,
4) une copie est réalisée et collée dans une nouvelle fenêtre,
5) l'ensemble de cette nouvelle image est sélectionnée puis pivotée pour ramener l'angle mesuré à 0°,

6) la mesure est effacée,

7) l'otolithe est à nouveau sélectionné et mesuré,

8) la nouvelle fenêtre est fermée,

9) répétition des étapes 3 à 8 pour l'otolithe droit.

Analyses avec SHAPE

Comme indiqué plus haut, seul le module "ChainCoder version 1.3a" a été utilisé pour générer une chaîne de codes décrivant le contour de l'objet. Le principe est relativement simple : à partir d'une image binarisée le logiciel va déterminer comme point de départ de sa mesure le point le plus haut de l'image, puis il va coder le contour pixel par pixel selon la technique présentée par Herbert Freeman en 1974 (Freeman, 1974), de la manière décrite ci-dessous.

Pour chaque pixel à partir du point de départ, chacune des 8 cases entourant ce point est codé de 0 à 7 ; le code attribué au passage du centre d'un pixel au centre du suivant correspond à la direction empruntée. Cette opération est répétée jusqu'au retour au pixel de départ. La Figure 2-14 présente un exemple concret :

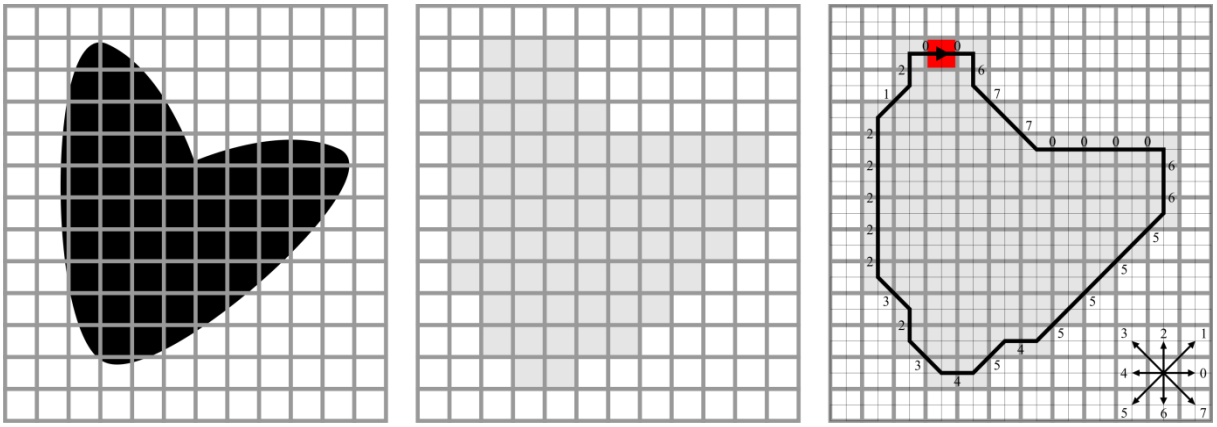


Figure 2-14 : Exemple de création d'une chaîne de codes à partir d'un contour d'objet en forme de cœur.
À gauche : la forme de base ; au centre : les pixels correspondant à cette forme (gris) ; à droite : la méthode de codage du contour sous la forme d'une chaîne de codes (Freeman, 1974).
Le code de ce contour est : 06770000665555454323222221 20.

Cette méthode de codage permet de reconstruire précisément l'objet à partir d'une chaîne de codes, les coordonnées des différents points pouvant être facilement successivement décodées, l'orientation et la distance entre deux points étant connues (Table 2-5).

Table 2-5 : Informations d'orientation et de distance des valeurs des chaînes de codes.

Code	Angle	Distance	Code	Angle	Distance
0	0	1	**4**	π	1
1	$\pi/4$	$\sqrt{2}$	**5**	$-3\pi/4$	$\sqrt{2}$
2	$\pi/2$	1	**6**	$-\pi/2$	1
3	$3\pi/4$	$\sqrt{2}$	**7**	$-\pi/4$	$\sqrt{2}$

Analyses avec R et Momocs

Les chaînes de codes générées sont ensuite importées sous R, puis traitées à l'aide du package Momocs.

Dans un premier temps, l'ensemble des contours est orienté, puis centré et enfin redimensionné sans déformation pour les ramener tous à une taille standard, comme le présente la Figure 2-15.

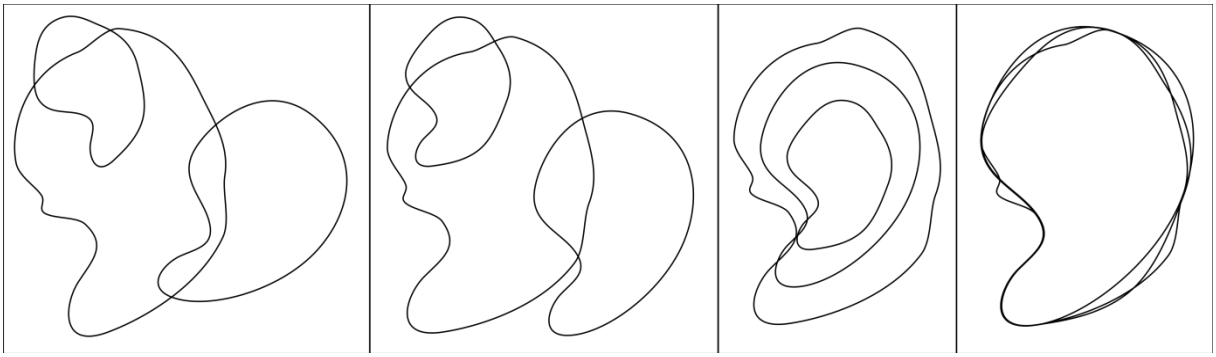


Figure 2-15 : Pré-traitements sous R à l'aide du package Momocs.
De gauche à droite, les objets après ouverture du fichier de chaînes de codes ; après uniformisation de l'orientation ; après centrage ; après redimensionnement.

Ces étapes préliminaires effectuées, il est possible de calculer, à l'aide du pouvoir harmonique ou "*Harmonic Power*" (II.G.1 -, page 62), le nombre minimum d'harmoniques de Fourier nécessaires pour représenter en moyenne 99,9% de l'information des contours pour l'ensemble des objets mesurés. Il ne reste plus alors qu'à calculer pour chaque objet les constantes (4 par harmonique) de chacune des harmoniques le décrivant. C'est l'ensemble de ces constantes pour chaque objet qui par la suite va permettre de comparer les objets entre eux. Il est possible de les exporter depuis R sous la forme d'un fichier texte avec séparateur ";" (.csv) pour ensuite le manier sous d'autres logiciels comme Excel.

II.F - Etude de l'asymétrie fluctuante

II.F.1 - Pré-requis à l'étude de l'asymétrie fluctuante

II.F.1.a - Elimination des données aberrantes

La méthodologie décrite par Palmer (Palmer & Strobeck, 2003b) est basée sur des projections et l'élimination des individus identifiés comme aberrants graphiquement et statistiquement à l'aide du test de Grubb's pour aberrants (Rohlf & Sokal, 1995; Palmer & Strobeck, 2003a).

Cette méthode consiste dans un premier temps, sur des mesures répétées de l'ensemble des individus, en la projection graphique des valeurs de la première mesure en fonction de la

seconde afin de déterminer les points présentant la plus grande variabilité de mesure entre réplicas. Les points s'éloignant fortement de la droite y = x sont alors considérés comme suspects. Une fois ces points identifiés, il est alors possible de déterminer à l'aide du test statistique de Grubb's si cette différence entre deux mesures est supérieure à celle qui pourrait être attendue du fait de l'échantillonnage (Rohlf & Sokal, 1995; Palmer & Strobeck, 2003a).

Le test de Grubb's s'effectue en calculant pour les individus concernés leur statistique de Grubb's (t_G) :

$$t_G = \frac{(Y_i - \overline{Y})}{S}$$

où Y_i correspond à la valeur pour l'individu, ici mesure 1 – mesure 2, $\overline{Y}$ à la moyenne de la série de mesures et S à l'écart type de la série.

Une fois cette valeur calculée, il faut la comparer aux valeurs de la table "Table DD : Critical values for testing ouliers (according to Grubb's)" [11] (Rohlf & Sokal, 1995). Il suffit alors de se reporter au nombre d'individus dans l'échantillon et de fixer un risque α (par exemple α fixé à 5%, donc 10% pour un test à deux queues comme ici (Rohlf & Sokal, 1995; Palmer & Strobeck, 2003a)) pour déterminer la valeur critique à laquelle comparer ce résultat.

De la même manière, cette procédure est appliquée en utilisant cette fois une projection graphique droite/gauche pour identifier les individus présentant une asymétrie importante et déterminer si cette asymétrie est supérieure ou non à celle pouvant être attendue de par l'échantillonnage (Palmer & Strobeck, 2003a). Dans le cas de l'asymétrie des otolithes, la cause peut être un élément propre aux objets observés comme une cassure de l'un des otolithes, une différence de composition/cristallisation (Gauldie, 1993; Oliveira *et al.*, 1996; Falini *et al.*, 2005), ou encore la conséquence d'un problème lors de la mesure ou de l'enregistrement de la mesure. Palmer et Strobeck (Palmer & Strobeck, 2003a) conseillent d'utiliser une projection des valeurs d'un côté par rapport à celles de l'autre, à la base de leur indice FA9 (Palmer, 1994). Si nous considérons le niveau d'asymétrie attendu comme étant faible, le nuage obtenu doit être proche de la droite d'équation y = x. En cas d'écart à cette droite (points en rouge sur la Figure 2-16), il est possible de suspecter une origine liée à un "*dégât,* […] *perturbation*

[11] Rohlf FJ, Sokal RR. Statistical Tables. Third edition. New York: W. H. Freeman; 1995. P178-179

durant le développement non associé à l'instabilité du développement, erreur de calibration entre différentes séances de mesures, ou effet extrême de plasticité phénotypique, etc." (Palmer & Strobeck, 2003a).

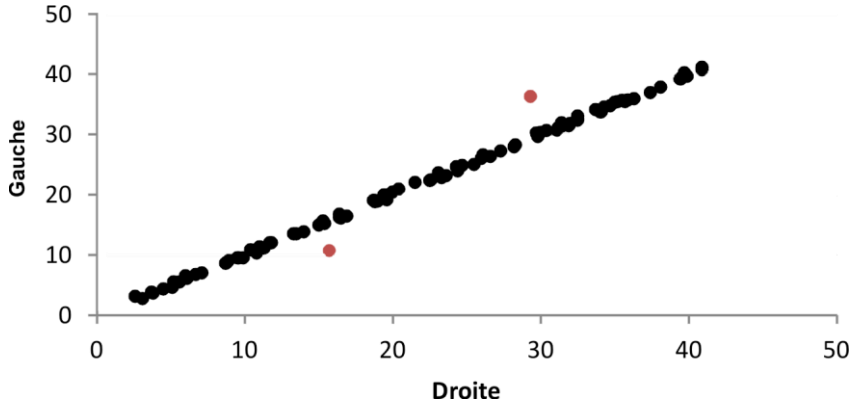


Figure 2-16 : Exemple de projection des valeurs d'un côté par rapport à celles de l'autre (unités arbitraires). Nous reconnaissons ici un nuage de points présentant peu de différences entre la valeur droite et la valeur gauche (en noir) et deux points aberrants (en rouge) sortant fortement de ce nuage.

Une fois ces points identifiés, le test de Grubb's (Rohlf & Sokal, 1995; Palmer & Strobeck, 2003a) permet de déterminer s'il est bien nécessaire d'écarter ces points.

Enfin, dans le cas où plusieurs paramètres sont utilisés, une dernière projection graphique des différences droite – gauche (D - G) d'un paramètre par rapport à celles d'un autre, suivie de la même procédure de vérification statistique, permet d'identifier les individus présentant des valeurs aberrantes entre paramètres mesurés (Palmer & Strobeck, 2003a).

II.F.1.b - Quantification de l'erreur de mesure

Comme expliqué précédemment, ce travail porte sur l'étude de l'asymétrie des otolithes (*sagittae*) de post-larves et juvéniles de poissons. Cette première phrase peut être exprimée d'une manière plus grossière mais qui présente l'intérêt de mettre en évidence l'un des soucis majeurs de ce genre de travail : "Le présent travail porte sur l'étude de minuscules différences entre de minuscules objets". Nous comprenons donc l'importance d'effectuer des mesures aussi précises que possible.

Malgré toutes les précautions prises, il subsiste cependant une source d'erreurs impossible à éliminer : l'opérateur. C'est en effet de ce dernier que vont dépendre plusieurs facteurs tel que le placement des objets sous l'objectif du microscope ou encore la mise au point pour la prise de photographie. C'est cette dernière qui représente l'une des plus importantes sources d'erreur dans le cas d'objets épais de petite dimension comme les otolithes étudiés.

Nous nous retrouvons dans une situation où l'observation du contour d'objets relativement épais comme des otolithes, à un fort grossissement, peut subir une variation liée à la mise au point effectuée par l'opérateur pour tenter de maximiser la proportion d'objet dans le champ, du fait d'une profondeur de champ inférieure à l'épaisseur de l'objet (Figure 2-17).

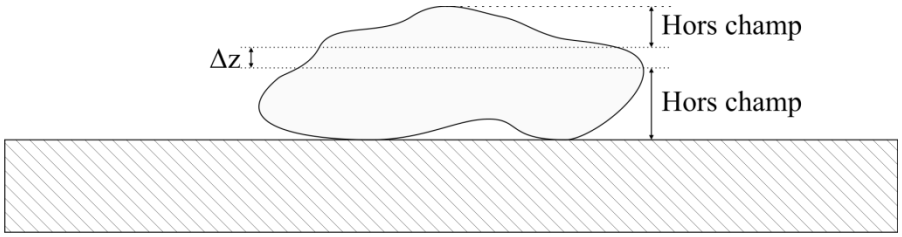


Figure 2-17 : Illustration du rôle de la profondeur de champ dans l'erreur de mesure.
Ici l'épaisseur de l'objet est supérieure à la profondeur de champ Δz. L'opérateur, lors de la mise au point du microscope, va tenter de maximiser la proportion d'objet dans le champ, ici en descendant l'objectif ; une légère modification de la mise au point va donc fortement impacter la proportion d'objet dans le champ, donc nette, lors de la capture d'image.

Les étapes d'analyse de l'image vont potentiellement ajouter d'autres erreurs à celle de la prise de vues. Il convient donc de quantifier l'erreur introduite lors de la mesure de l'objet avant de s'intéresser à l'asymétrie. La quantification de cette asymétrie n'a en effet pas de sens si l'erreur introduite lors de la mesure est supérieure à l'asymétrie réelle des objets.

Un exemple simple permet de comprendre le problème lié à cette erreur : posons que lors de la mesure d'un paramètre une erreur aléatoire de 0,5% de la taille totale de ce paramètre soit introduite. Les valeurs mesurées pour les côtés droit et gauche seront donc D ±0,5% et G ±0,5%. La valeur de la différence sera donc (D-G) ±1%, ce qui n'est pas énorme. Or si la valeur réelle (sans erreur) de D-G vaut 1%, l'erreur initialement introduite correspondra à ±100% de cette différence :

	Vraie	**Mesuré**	**D-G vrai**	**D-G mesuré**
Droite	99,5	99,5 ± 0,5	-1	vrai + erreur :
Gauche	100,5	100,5 ± 0,5		-1 ± 1

Comme dans cet exemple, il est particulièrement important de quantifier l'erreur liée à la mesure dans le cas d'une étude sur l'asymétrie fluctuante où les différences attendues sont de l'ordre du pourcent (Palmer & Strobeck, 1986; Palmer, 1994; Palmer & Strobeck, 2003b).

Il est possible de quantifier cette erreur de mesure pour des paramètres morphologiques (ou traits) méristiques (dénombrables) ou métriques (mesurables), d'après "Fluctuating Asymmetry Analyses: A Primer" (Palmer, 1994). La méthodologie développée ici concerne les traits de type métriques, aucun trait de type méristique n'ayant été utilisé lors de cette thèse.

Comme pré-requis pour ce type d'analyse, une ANOVA à modèle mixte à deux facteurs, "individu" et "côté", est réalisée sur une série de mesures répétées au moins une fois.

Cette répétition de mesures doit respecter certaines conditions afin de refléter la réalité de l'erreur liée à l'opérateur. Il faut se prémunir de l'effet "mémoire", c'est-à-dire faire en sorte que l'opérateur n'ait pas en mémoire les réglages de mise au point qu'il a utilisés pour chaque objet lors de la première mesure. Pour ce faire il faut éviter d'effectuer les deux mesures l'une immédiatement après l'autre. Palmer conseille dans "Fluctuating Asymmetry Analyses : A Primer" (Palmer, 1994) de laisser s'écouler au moins un jour entre deux réplicas dans le cas de petites séries, et un temps au moins égal à la durée de la première série de mesures si celle-ci représente plus d'une journée de travail. Dans ce même document, Palmer conseille par ailleurs d'effectuer les mesures répétées en aveugle, c'est-à-dire sans information sur les mesures effectuées précédemment.

Quand la répétition de ces mesures est terminée, une ANOVA modèle mixte à deux facteurs est effectuée en utilisant les paramètres suivants :

- premier facteur : individu, type d'effet : aléatoire
- second facteur : côté, type d'effet : fixe.

Ce test présente en outre l'avantage de détecter la présence d'une possible asymétrie directionnelle (Palmer, 1994; Somarakis *et al.*, 1997b; Palmer & Strobeck, 2003b), ce qui sera développé plus loin.

Chaque individu est représenté par 4 lignes pour 2 mesures (6 lignes pour 3 mesures, 8 pour 4, etc.) pour chaque variable/caractère, comme le montre le Table 2-6 ci-dessous :

Table 2-6 : ANOVA modèle mixte à deux facteurs, présentée par Palmer (Palmer, 1994).

Individu	Côté	Mesure	Caractère 1	Caractère 2	Caractère…	Caractère n
1	D	1	C11D1	C21D1	C…1D1	Cn1D1
1	D	2	C11D2	C21D2	C…1D2	Cn1D2
1	G	1	C11G1	C21G1	C…1G1	Cn1G1
1	G	2	C11G2	C21G2	C…1G2	Cn1G2
2	D	1	C12D1	C22D1	C…2D1	Cn2D1

L'importance de l'asymétrie vis-à-vis de l'erreur de mesure se retrouve au niveau de l'interaction "individu" x "côté" (Table 2-7).

Table 2-7 : Exemple de table de résultats d'une ANOVA modèle mixte à deux facteurs utilisée dans le cadre de la quantification de l'erreur de mesure lors d'une expérimentation portant sur l'asymétrie fluctuante. Significativité : *** p<0,001.

	Effet	Carré moyen (CM)	ddl	F ratio	
Côtés	Fixe	$2{,}004.10^{+6}$	1	0,09760	
Individus	Aléatoire	$1{,}314.10^{+10}$	32	639,68530	***
Interaction	Aléatoire	$2{,}053.10^{+7}$	32	55,52701	***
Erreur		$3{,}698.10^{+5}$	66		

La valeur du F pour cette interaction correspond au rapport suivant :

$$F(\text{interaction}) = \frac{\text{CM}_{interaction}}{\text{CM}_{erreur}}$$

Si cette interaction est significative, alors la variation inter-côté liée à l'erreur de mesure est inférieure à la variation inter-côté liée aux individus.

Nous pouvons donc quantifier cette erreur en commençant par estimer la variance σ_i^2 réellement liée à l'asymétrie non directionnelle, par la formule suivante (Palmer, 1994) :

$$\sigma_i^2 = \frac{(\text{CM}_{interaction} - \text{CM}_{erreur})}{\text{Nombre de mesures répétées}}$$

Une fois cette valeur obtenue, il est possible d'exprimer l'erreur de mesure en pourcentage de cette variance, par la formule suivante (Palmer, 1994) :

$$\text{Erreur de mesure en pourcentage de cette variance estimée } = 100 \times (\frac{\sigma_m^2}{\sigma_i^2})$$

où σ_m^2 est la variance liée à l'erreur de mesure.

De la même manière il est possible de calculer la confiance en pourcent dans cette estimation par la formule suivante (Palmer, 1994) :

$$\text{confiance en pourcent} = 100 \times \frac{\frac{(\text{CM}_{interaction} - \text{CM}_{erreur})^2}{\left(\frac{(\text{CM}_{interaction})^2}{\text{ddl}_{interaction}} + \frac{(\text{CM}_{erreur})^2}{\text{ddl}_{erreur}}\right)}}{\text{ddl}_{individus}}$$

II.F.1.c - Normalité

Une des conditions pour pouvoir parler d'asymétrie fluctuante est que la distribution des valeurs d'asymétrie respecte la loi Normale (Palmer & Strobeck, 1986; Palmer, 1994; Palmer & Strobeck, 2003b; a). La normalité des distributions de fréquences est donc vérifiée à l'aide du test de la qualité d'ajustement de Kolmogorov-Smirnov[12] (Palmer & Strobeck, 1986; Sokal

[12] Traduction littérale de : "*Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit*"

& Rohlf, 1995). Ce test est réalisé du plus petit au plus grand niveau de regroupement dont la comparaison est souhaitée (Palmer & Strobeck, 2003b).

Pour compléter ces résultats, les niveaux de *Skewness*[13] et de Kurtosis (aplatissement) de ces distributions de fréquences sont aussi observés (Palmer, 1994; Palmer & Strobeck, 2003b). Les valeurs critiques utilisées pour identifier les valeurs de Kurtosis (k) significativement leptokurtiques (resserrée) ou platykurtiques (aplatie) sont celles obtenues par simulation par Palmer et Strobeck (Palmer & Strobeck, 2003b) pour l'estimateur non biaisé de k (Sokal & Rohlf, 1995) :

$$k = \frac{(n+1)n\sum y^4}{(n-1)(n-2)(n-3)s^4} - \frac{3(n-1)^2}{(n-2)(n-3)}$$

où n correspond au nombre d'individus, *y "fait référence à un écart à la moyenne"* (Palmer & Strobeck, 2003b) et *s* correspond à l'écart type.

Comme les valeurs critiques de platykurtisme pour des n>200 ne sont pas disponibles, ces distributions ne sont testées que pour le leptokurtisme, en utilisant les valeurs critiques pour l'estimateur de k suivant ((Palmer & Strobeck, 2003b) d'après (Darlington, 1970; Sokal & Rohlf, 1995)):

$$k = \left[\frac{\sum(x_i - \bar{x})^4}{(n \times \sigma^4)}\right] - 3$$

où x_i correspond à la valeur du paramètre x pour l'individu i, $\bar{x}$ correspond à la moyenne du paramètre, n correspond au nombre d'individus et σ^4 correspond au carré de la variance.

En fait, les valeurs critiques pour ces deux formules convergent avec l'augmentation de n (Palmer & Strobeck, 2003b).

II.F.1.d - Asymétrie Directionnelle

La présence d'une asymétrie directionnelle (AD) peut s'avérer gênante dans le cadre de l'étude de l'asymétrie fluctuante. L'AD peut en effet augmenter artificiellement le niveau d'asymétrie quantifié à l'aide d'indices basés sur la valeur absolue des différences |D-G| (Palmer, 1994; Palmer & Strobeck, 2003b). En effet, si nous travaillons avec |D-G|, la distribution des fréquences de ces différences ne sera plus sous la forme d'une courbe

[13] Etude de la symétrie de la distribution

gaussienne (Figure 2-18 A) mais d'une courbe demi-gaussienne (Figure 2-18 B). De fait, en présence d'une AD (Figure 2-18 C), l'asymétrie moyenne va être augmentée par rapport à une distribution identique mais centrée sur 0 (Figure 2-18 D).

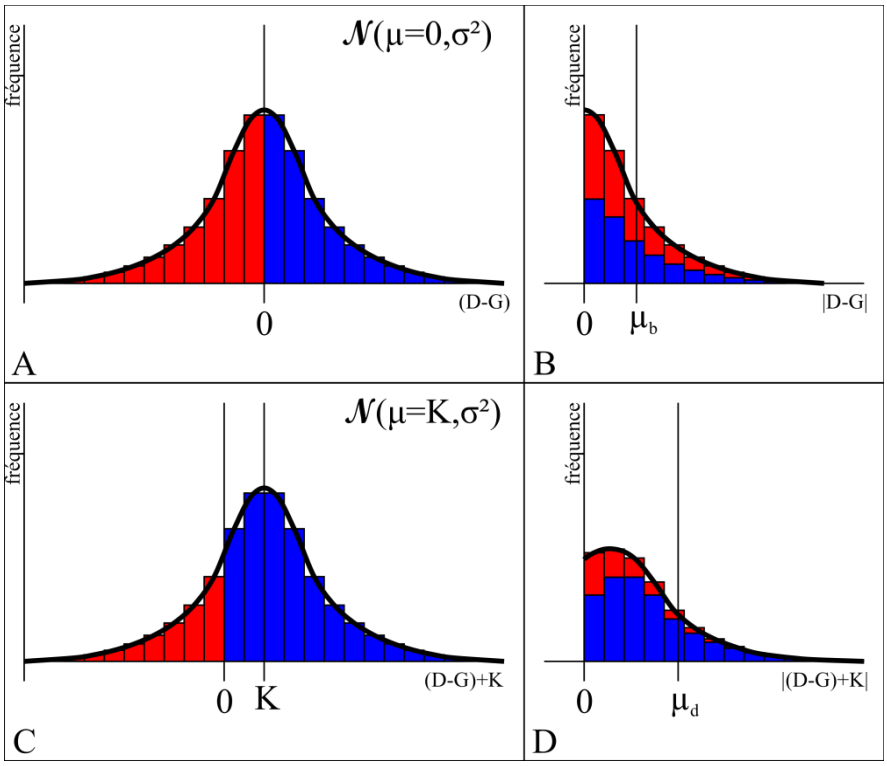


Figure 2-18 : Influence de l'asymétrie directionnelle (AD) sur la mesure de l'asymétrie fluctuante (AF).
Rouge : valeurs de (D-G) inférieures à 0 ; bleu : valeurs (D-G) supérieures à 0.
A partir d'un même échantillon hypothétique et d'une constante K nous obtenons les graphiques suivants :
A : distribution normale de moyenne nulle des différences (D-G) de l'échantillon
B : distribution des valeurs absolues des différences (|D-G|) de l'échantillon
C : distribution normale de moyenne K des différences ((D-G) +K) de l'échantillon
D : distribution des valeurs absolues des différences (|(D-G) +K|) de l'échantillon.
Les distributions A et C sont normales, de variance σ^2 identique mais de moyenne μ différente.
Les distributions B et D sont strictement positives avec $\mu_d > \mu_b$ quelle que soit la valeur de K.
Une AD va de manière systématique entraîner une surévaluation de l'AF lors de la comparaison des moyennes.

En plus du problème d'augmentation artificielle de la valeur d'asymétrie absolue, une AD significative pour un paramètre peut, selon Palmer (Palmer & Strobeck, 1992; Palmer, 1994), signifier qu'une partie de la variation inter-côtés peut avoir une origine purement génétique sans lien avec l'instabilité du développement.

Pour tester la présence d'une AD, un test-t peut être utilisé pour comparer la moyenne des différences (D-G) d'un échantillon à la valeur 0. Palmer et Strobeck ((Palmer, 1994; Palmer & Strobeck, 2003b)) suggèrent d'utiliser un test-t pour échantillons appariés pour comparer les valeurs du côté droit à celles du côté gauche d'un échantillon, ou une ANOVA modèle mixte à deux facteurs sur des mesures répétées comme celle utilisée dans le cadre de la quantification de l'erreur de mesure (Table 2-6). Dans ce cas, l'information concernant l'AD est à rechercher

au niveau du facteur côté : une valeur significative indique la présence d'une AD (moyenne D différente de moyenne G) supérieure à l'asymétrie non directionnelle.

Il est intéressant de noter, comme l'ont indiqué Palmer et Strobeck (Palmer & Strobeck, 2003b), que dans le cas d'un grand échantillon, une faible AD peut devenir significative. Ces auteurs proposent de regarder si la moyenne des différences (D-G) est inférieure à [0,798√var(D-G)]. Si cette condition est validée, ils indiquent qu'une correction de l'AD peut être effectuée.

II.F.1.e - Relation taille et asymétrie

L'existence possible d'une relation entre asymétrie et taille du paramètre observé peut s'avérer problématique dans le cadre de l'étude de l'asymétrie fluctuante (Palmer & Strobeck, 1986; Palmer, 1994; Somarakis *et al.*, 1997b; Palmer & Strobeck, 2003b; a). Cette association peut être gênante dès lors que l'objectif sera la comparaison du niveau d'asymétrie entre deux groupes d'individus ayant des tailles différentes pour le paramètre mesuré. En effet, si une relation positive existe entre la taille et le niveau d'asymétrie, le groupe présentant les plus grandes valeurs de taille aura tendance à surestimer cette asymétrie. Si cette relation est négative, le groupe présentant les plus grandes valeurs de taille aura tendance à sous-estimer cette asymétrie.

Afin de déterminer si une telle relation existe, dans le cas de post-larves et juvéniles de poissons dont la taille de l'otolithe croît avec celle de l'individu (Oozeki & Watanabe, 2000; Strelcheck *et al.*, 2003; Campana, 2005), une solution consiste en un calcul de corrélation entre le logarithme népérien de la taille standard [ln(LS)] des individus et le logarithme népérien de la valeur absolue de la différence entre la valeur du côté droit et celle du côté gauche pour un paramètre [ln(|D-G|)] (Somarakis *et al.*, 1997b). Une autre solution consiste à rechercher une corrélation entre la valeur absolue de la différence entre côté droit et côté gauche pour un paramètre [|D-G|] et la valeur moyenne des deux côtés [(D + G)/2] (Palmer & Strobeck, 1986, 2003a; Palmer, 1994).

Si une corrélation significative apparaît, l'utilisation d'une correction de relation est nécessaire. Cela peut être réalisé en utilisant des indices comme :

$$FA2 = \frac{\sum_{i=0}^{n}\left(\frac{|D_i - G_i|}{\frac{D_i + G_i}{2}}\right)}{n} \cong \frac{\sum_{i=0}^{n}\left(ln\left(\frac{D_i}{G_i}\right)\right)}{n} = \frac{\sum_{i=0}^{n}(|ln(D) - ln(G)|)}{n}$$

$$FA6 = \mathrm{var}\frac{(D-G)}{\left(\frac{(D+G)}{2}\right)}$$

$$FA8 = \mathrm{var}\left(\log\left(\frac{D}{G}\right)\right) = \mathrm{var}\big(\log(D) - \log(G)\big)$$

Il est toutefois important de noter que, selon Palmer et Strobeck, ces corrections sont à manier avec précaution, la relation entre la taille et l'asymétrie n'étant pas forcément linéaire.

II.F.2 - Analyse de l'asymétrie fluctuante

Le choix du test utilisé pour détecter une différence entre les niveaux d'asymétrie de deux échantillons, pour un paramètre, va dépendre de l'indice utilisé pour quantifier cette asymétrie. Ces indices de référence ont été déterminés par Palmer (Palmer, 1994). De manière générale l'utilisation d'un indice mesurant des différences signées (D-G) conduira à l'utilisation d'un test de comparaison des variances, alors qu'un indice mesurant des différences absolues (|D-G|) amènera à l'utilisation d'un test de comparaison des moyennes.

II.F.2.a - Asymétrie signée

Il est possible de mesurer une asymétrie de façon à indiquer son sens (D>G ou D<G). Pour cela des indices effectuant une différence directe entre les valeurs d'un côté et celles de l'autre sont utilisés. Les plus classiques sont les indices FA 4 à 7 :

$$\mathrm{FA4} = \mathrm{var}(D - G) \quad \mathrm{FA5} = \frac{\sum(D-G)^2}{N} \qquad \mathrm{FA6} = \mathrm{var}\frac{(D-G)}{\left(\frac{(D+G)}{2}\right)} \qquad FA7 = \frac{var(D-G)}{moy\left(\frac{(D+G)}{2}\right)}$$

Pour déterminer s'il existe une différence entre échantillons pour les niveaux d'asymétrie obtenus sous la forme de différences signées D-G, un test d'hétéroscédasticité est utilisé. Plusieurs tests existent, comme le *F*-test ou le test de Bartlett, cependant ces tests ne sont pas conseillés quand la normalité de la distribution est remise en question (Van Valen, 1978; Sokal & Rohlf, 1995; Palmer & Strobeck, 2003b), ce qui peut arriver en cas de leptokurtisme par exemple. D'autres tests sont moins sensibles à un écart à la normalité : les tests de Scheffé-

Box (Sokal & Rohlf, 1995), Levene (Van Valen, 1978; Palmer, 1994; Palmer & Strobeck, 2003b), Smith (Van Valen, 1978) et Jackknifing (Van Valen, 1978). Parmi ces tests, le test de Levene est le plus simple à la fois du point de vue du principe et de l'utilisation (Van Valen, 1978; Palmer, 1994; Palmer & Strobeck, 2003b). Il consiste en deux étapes :

1) pour chaque échantillon :
   a) calculer la moyenne $\bar{x}$ de l'échantillon,
   b) calculer une nouvelle variable : pour chaque individu calculer la différence absolue avec la moyenne : $y_i = |x_i - \bar{x}|$,
   c) calculer la moyenne et la variance de l'échantillon pour cette nouvelle variable ;
2) comparer les moyennes des échantillons (pour ces nouvelles variables) à l'aide d'un test-t ou d'une ANOVA.

Probablement du fait de sa simplicité, nous retrouvons ce test dans de nombreux logiciels de statistiques comme Statistica ou R.

II.F.2.b - Asymétrie absolue

L'asymétrie exprimée en valeur absolue de la différence D-G présente l'intérêt d'être généralement plus facilement comprise que lorsqu'elle est exprimée en différence D-G signée. En effet, un résultat sous forme de moyenne sera plus facilement compris que lorsqu'il est exprimé sous forme de variance. Les indices FA 1 à 3 sont classiquement utilisés dans ce cas :

$$FA1 = moy|D - G| \qquad FA2 = moy\left(\frac{|D-G|}{\left(\frac{D+G}{2}\right)}\right) \qquad FA3 = \frac{moy|D-G|}{moy\left(\frac{D+G}{2}\right)}$$

Pour comparer des asymétries exprimées en valeurs absolues, il est possible d'utiliser des tests statistiques de comparaison de moyennes comme le test-t ou l'ANOVA. En règle générale l'ANOVA est préférée car elle permet de comparer plus de deux échantillons.

II.G - Etude de la forme

Afin d'apporter des informations complémentaires aux mesures d'asymétrie, nous avons procédé à des comparaisons de formes des otolithes, basées sur l'étude de leurs contours (page 47 : Analyses avec SHAPE ; Figure 2-14), à l'aide d'une méthode appelée analyse elliptique de Fourier (AEF) (Giardina & Kuhl, 1977).

II.G.1 - Principe de l'analyse elliptique de Fourier

Le but de cette AEF est de transformer une information complexe de contour, comme une chaîne de codes (Figure 2-14), en une information plus simple à manier, sous la forme de coefficients (A, B, C et D) de différentes harmoniques d'une série de Fourier.

Le principe ici est similaire à celui d'un spirographe : des formes simples, comme des cercles (cas particulier) ou des ellipses, permettent de dessiner des formes plus complexes.

Cette méthode de dessin fondée sur l'accumulation d'ellipses, ou harmoniques, est à la base de l'AEF.

Kuhl et Giardina (Kuhl & Giardina, 1982) ont publié en 1982 la méthode présentée ci-après qui permet de réaliser une AEF à partir d'une chaîne de codes.

Pour rappel, une chaîne de codes "*C*" est constitué d'une succession de "*K*" chiffres compris entre 0 et 7 donnant à la fois une information de direction (angle) et de distance (1 ou $\sqrt{2}$), comme indiqué dans la Table 2-5. Cette succession de chiffres correspond aux liens "*l*" reliant chacun des points du contour d'une image d'un objet (forme) (Figure 2-14 ; Figure 2-19).

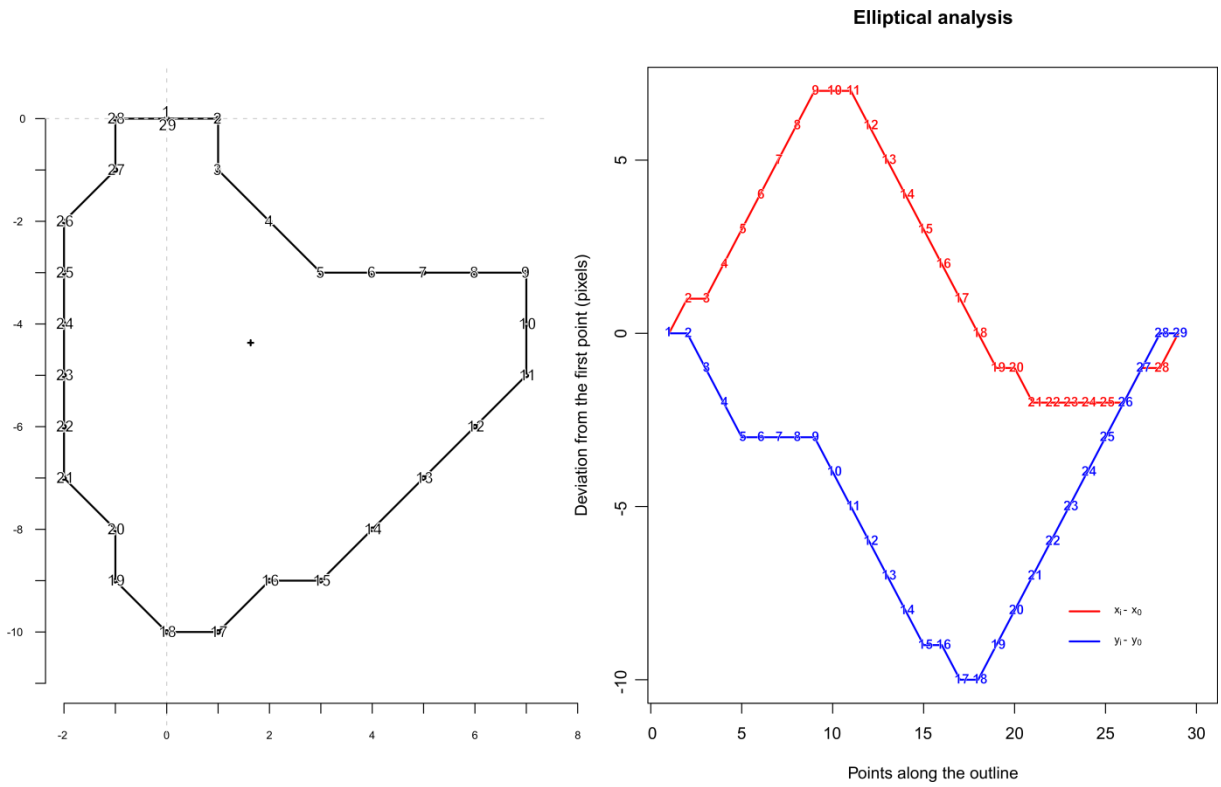


Figure 2-19 : Changements dans les projections *x*, *y* lors de la lecture d'une chaîne de codes.
Partie de gauche : projection en 2 dimensions obtenue lors de la lecture de la chaîne de codes : 0 6 7 7 0 0 0 0 6 6 5 5 5 5 4 5 4 3 2 3 2 2 2 2 2 1 2 0 0.
Chaque chiffre de la chaîne de codes correspond à un lien entre deux points.
Partie de droite : évolutions des coordonnées selon les axes x et y.
La courbe rouge correspond à l'évolution des valeurs des abscisses de chaque point en utilisant le point 1 comme origine : 1→2 : 1 ; 2→3 : 0 ; 3→4 : 1…
La courbe bleue correspond à l'évolution des valeurs des ordonnées de chaque point en utilisant le point 1 comme origine : 1→2 : 0 ; 2→3 : -1 ; 3→4 : -1…

Selon Kuhl et Giardina (Kuhl & Giardina, 1982), si la chaîne de codes est suivie à vitesse constante, le temps nécessaire à la traversée du lien l_i (valeur i de la chaîne de codes), c'est-à-dire pour passer du point *i-1* au point *i*, vaut :

$$\Delta t_i = t_i - t_{i-1} = 1 + \left(\frac{\sqrt{2}-1}{2}\right)(1-(-1)^{l_i})$$

Avec t_i le temps au point *i* et t_{i-1} le temps au point *i-1*. Les valeurs possibles sont ici 1 pour les valeurs paires de *i* et $\sqrt{2}$ pour les valeurs impaires de *i*.

De fait, le temps t_p nécessaire à la traversée des *p* premiers liens de la chaîne vaut :

$$t_p = \sum_{i=1}^{p} \Delta t_i$$

La période de base de la chaîne de codes est le temps nécessaire pour parcourir l'ensemble des *K* liens de la chaîne : $T = t_k$.

Lors de la traversée du lien l_i, les valeurs des projections sur les axes x et y vont évoluer de la manière suivante (Kuhl & Giardina, 1982) :

$$\Delta x_i = \mathrm{sgn}(6 - l_i)\mathrm{sgn}(2 - l_i) \quad \text{et} \quad \Delta y_i = \mathrm{sgn}(4 - l_i)\mathrm{sgn}(l_i)$$

$$\text{où } \forall x \in \mathbb{R}, \mathrm{sgn}(x) = \begin{cases} 1 & \text{si } x > 0 \\ 0 & \text{si } x = 0 \\ -1 & \text{si } x < 0 \end{cases}$$

Ceci peut être visualisé sur la partie droite de la Figure 2-19. Dans notre exemple les valeurs pour les trois premiers liens (c'est-à-dire 0, 6 et 7) sont les suivantes :

$\Delta x_1 = \mathrm{sgn}(6\text{-}0)\mathrm{sgn}(2\text{-}0) = 1$; $\Delta x_2 = \mathrm{sgn}(6\text{-}6)\mathrm{sgn}(2\text{-}6) = 0$; $\Delta x_3 = \mathrm{sgn}(6\text{-}7)\mathrm{sgn}(2\text{-}7) = 1$

$\Delta y_1 = \mathrm{sgn}(4\text{-}0)\mathrm{sgn}(0) = 0$; $\Delta y_2 = \mathrm{sgn}(4\text{-}6)\mathrm{sgn}(6) = \text{-}1$; $\Delta y_3 = \mathrm{sgn}(4\text{-}7)\mathrm{sgn}(7) = \text{-}1$.

Si le point de départ de la chaîne de codes est placé à l'origine, c'est-à-dire aux coordonnées (x=0 ; y=0), alors les projections de *x* et *y* pour les *p* premiers liens de la chaîne de codes sont respectivement (Kuhl & Giardina, 1982) :

$$x_P = \sum_{i=1}^{p} \Delta x_i \quad \text{et} \quad y_P = \sum_{i=1}^{p} \Delta y_i$$

Dans notre exemple pour les trois premiers liens cela donne : $x_3 = 1+0+1 = 2$ et $y_3 = 0\text{-}1\text{-}1 = \text{-}2$.

Dans ces conditions, les séries de Fourier pour les projections de *x* et *y* (pour un nombre N fixé d'harmoniques) sont les suivantes (Kuhl & Giardina, 1982) :

$$x_{(t)} = \sum_{n=1}^{N} \left[A_n \cos\left(\frac{2\pi n t}{T}\right) + B_n \sin\left(\frac{2\pi n t}{T}\right) \right] \quad \text{et} \quad y_{(t)} = \sum_{n=1}^{N} \left[C_n \cos\left(\frac{2\pi n t}{T}\right) + D_n \sin\left(\frac{2\pi n t}{T}\right) \right]$$

où *n* correspond au numéro de l'harmonique et *N* au nombre maximum d'harmoniques (pour un résultat exact N=∞), les valeurs A, B, C et D sont spécifiques de chaque harmonique pour une forme donnée.

Il est possible de calculer ces valeurs pour chacune des harmoniques utilisées pour décrire une forme (Kuhl & Giardina, 1982) :

$$A_n = \frac{T}{2n^2\pi^2} \sum_{p=1}^{k} \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} \left[\cos\left(\frac{2\pi n t_p}{T}\right) - \cos\left(\frac{2\pi n t_{p-1}}{T}\right) \right]$$

$$B_n = \frac{T}{2n^2\pi^2} \sum_{p=1}^{k} \frac{\Delta x_p}{\Delta t_p} \left[\sin\left(\frac{2\pi n t_p}{T}\right) - \sin\left(\frac{2\pi n t_{p-1}}{T}\right) \right]$$

$$C_n = \frac{T}{2n^2\pi^2}\sum_{p=1}^{k}\frac{\Delta y_p}{\Delta t_p}\left[\cos\left(\frac{2\pi n t_p}{T}\right) - \cos\left(\frac{2\pi n t_{p-1}}{T}\right)\right]$$

$$D_n = \frac{T}{2n^2\pi^2}\sum_{p=1}^{k}\frac{\Delta y_p}{\Delta t_p}\left[\sin\left(\frac{2\pi n t_p}{T}\right) - \sin\left(\frac{2\pi n t_{p-1}}{T}\right)\right]$$

Chacun de ces coefficients aura une valeur comprise entre -1 et 1.

L'ensemble des valeurs A, B, C et D décrivant une forme peut alors être utilisé pour comparer entre elles les formes de différents objets, comme des otolithes. Nous comprenons facilement que ce nombre de coefficients croît avec le nombre N d'harmoniques utilisées pour approximer la forme d'un objet de plus en plus précisément, comme l'illustre la Figure 2-20.

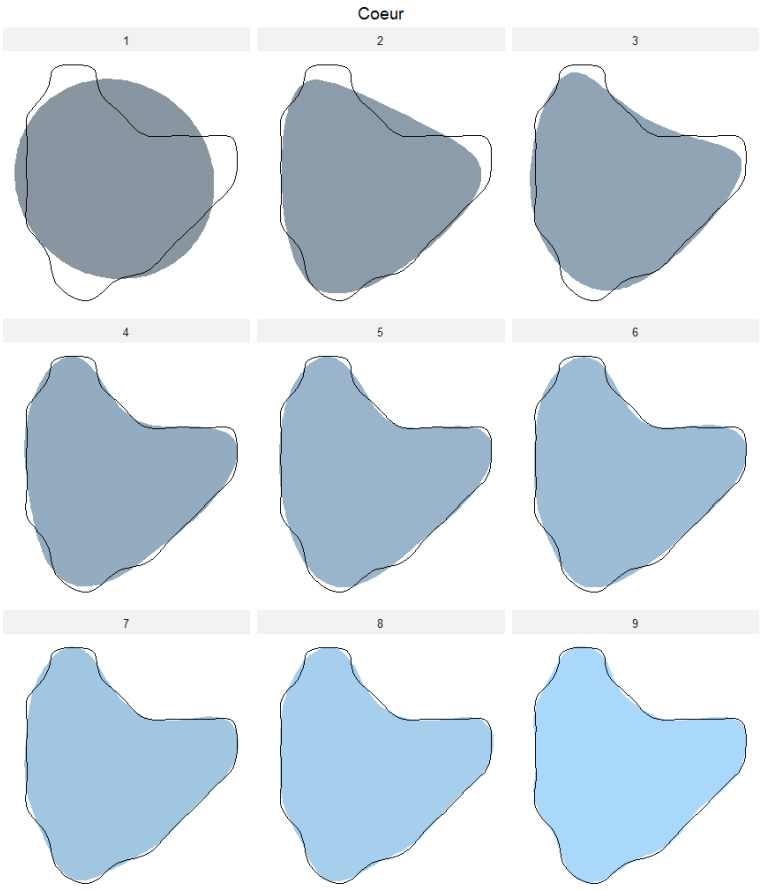


Figure 2-20 : Reconstitution d'une forme complexeà l'aide d'un nombre limité d'harmoniques successives (de 1 à 9).

Il est donc nécessaire d'arriver à un compromis entre qualité de l'approximation de la forme et nombre d'harmoniques utilisées (MacLeod, 2012).

Afin de déterminer le nombre d'harmoniques nécessaire et suffisant, Vincent Bonhomme (Bonhomme *et al.*, 2014) propose d'utiliser le "*Harmonic Power*" (HP) comme indicateur de la

qualité de la reconstitution de la forme. Pour l'harmonique n, il se calcule de la manière suivante :

$$HP_n = \mathrm{frac}_k(A_n^2 + B_n^2 + C_n^2 + D_n^2)$$

où la fonction "frac_k" renvoie aux "k" premières décimales d'un nombre, par exemple :

$$\mathrm{frac}_2(3{,}141593) = 14$$

Le cumul de ces valeurs pour chaque harmonique successive ajoutée, appelé "Pouvoir Harmonique Cumulé" (PHC), vas tendre vers 100, la valeur de 100 étant censée correspondre à une reconstitution parfaite. Il suffit alors de fixer la qualité de la représentation souhaitée, par exemple à une PHC de 99,9, pour déterminer le nombre d'harmoniques nécessaire pour atteindre cette qualité de représentation. Cette méthode est appelée "calibration du pouvoir harmonique" (Bonhomme *et al.*, 2014).

Dans le cas de l'exemple du cœur présenté précédemment (Figure 2-14), ce PHC de 99,9 est atteint pour 12 harmoniques comme le montrent les résultats de la Table 2-8 :

Table 2-8 : Exemple de la forme de cœur, calibration du "*Harmonic Power*".

	h1	h2	h3	h4	h5	h6	h7	h8	h9	h10	h11	h12	h13
PHC	74,42	85,68	96,67	97,32	97,56	98,30	98,53	99,07	99,23	99,33	99,81	99,91	100

Il est intéressant de noter que dans cet exemple l'utilisation de cette valeur de 99,9 n'apporte pas de réelle condensation de l'information de contour. En effet celui-ci étant constitué de 28 points sa description de base est constituée de 56 informations (28 pour l'abscisse et 28 pour l'ordonnée), l'utilisation de 12 harmoniques ne fait descendre cette valeur qu'a 48 informations (12 x 4 coefficients). Toutefois, dans le cas de données concernant le contour d'un otolithe constitué de plusieurs centaines de points, l'utilisation de 21 harmoniques par exemple entraîne une condensation substantielle de l'information.

II.G.2 - Analyse statistique de ces données

A partir de ces données de contour sous la forme de coefficients de Fourier il est possible d'utiliser par exemple une Analyse en Composantes Principales (ACP) pour étudier la répartition des individus les uns par rapport aux autres et les éléments influençant cette répartition. Une analyse des variances (Multivariate ANalysis Of VAriance, MANOVA) peut aussi être utilisée pour comparer différents groupes et déterminer s'il existe une différence significative de formes entre ces groupes, soit directement sur les harmoniques calculées, soit sur les composantes principales les plus informatives de l'ACP. De plus, une analyse canonique

des coordonnées principales[14] (CAP) peut permettre de vérifier l'existence de groupes définis *a priori*. La CAP est une analyse contrainte (*constrained ordination*) utilisant des groupes connus *a priori*. En complément de la CAP, une validation croisée (*cross validation*) est effectuée à l'aide d'un test d'allocation, le test *Leave one out*. Ce test fonctionne en prenant un individu et en l'attribuant au groupe *a priori* dont les individus lui sont le plus proche/semblables (pas forcément son groupe d'origine), le résultat est alors enregistré et l'opération répété indépendamment pour l'ensemble des individus. Ce test *leave one out* donne une mesure raisonnable et non biaisée de la distinction entre les groupes (Anderson & Willis, 2003; Tracey *et al.*, 2006; Anderson *et al.*, 2008).

[14] Canonical analysis of principal coordinates

III - Expérimentation

Comme prérequis aux expérimentations portant sur les effets du phosphate et du zinc, l'étude de l'influence potentielle de la croissance des poissons sur l'apparition d'une AF, ainsi qu'un essai préliminaire de faisabilité de tests de polluants comparant le phosphate de sodium et le chlorure de cuivre, ont été réalisés. Ces expérimentations, non présentées ici, sont disponibles à l'Annexe V.

L'ensemble des tables de résultats est disponible dans l'Annexe VI.

III.A - Phosphate, test de différentes concentrations

Cette expérimentation avait pour but de déterminer l'effet de deux concentrations de phosphate sur le niveau d'asymétrie des otolithes de *D. labrax*. En effet, lors de l'essai de faisabilité (Annexe V : Expérimentations *in aquaria* complémentaires), les individus des bacs Na_3PO_4 présentaient un comportement plus calme et une tendance à un meilleur taux de survie et à une AF plus basse.

A partir de cette expérimentation, la durée de traitement est fixée à 10 jours pour qu'en cas de développement d'une asymétrie elle soit bien installée (Anken *et al.*, 1998). Cette durée permet aussi vu l'âge de réception des individus de rester dans des tailles d'objets (*sagittae*) observables sous microscope avec un objectif 10 x.

950 poissons âgés de 51 jours ont été reçus puis acclimatés durant cinq jours avant d'être exposés durant 10 jours. La densité de poissons est fixée à 60 individus par bac. Les concentrations testées ont été de 0,4 $mg.l^{-1}$ de Na_3PO_4 (0,234 $mg.l^{-1}$ HPO_4^{2-}) et de 15 $mg.l^{-1}$ (8,782 $mg.l^{-1}$ HPO_4^{2-}), ce qui correspond à des concentration plus élevées que les valeurs moyennes environnementales mais qui restent dans la gamme des concentrations observées dans la littérature ((J. Álvarez-Rogel *et al.*, 2006; Nessim, R. B. *et al.*, 2010)).

Chaque condition a été répliquée dans 3 bacs, soit 9 bacs au total :

- bacs 1, 2, 3 : Témoin eau de mer, (0 $mg.l^{-1}$)
- bacs 4, 5, 6 : Na_3PO_4 0,4 $mg.l^{-1}$
- bacs 7, 8, 9 : Na_3PO_4 15 $mg.l^{-1}$.

III.A.1 - Mortalité

Table 2-9 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, suivi de mortalité.
En bleu : bacs témoins en eau de mer ; en vert : bacs tests Na_3PO_4 0,4 mg.l^{-1} ; en rouge : bacs tests Na_3PO_4 15 mg.l^{-1}. * : un problème de gazage d'une durée comprise entre 0 et 20 heures est survenu entre J + 3 et J + 4.

Temps	Bacs									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
	0 mg.l^{-1}	0 mg.l^{-1}	0 mg.l^{-1}	0,4	0,4	0,4	15	15	15	Total
J + 1			1							1
J + 2		1		1	1				2	5
J + 3									1	1
J + 4	1	2		1	1	2			1	8*
J + 5							1		1	2
J + 6		1	1		1		1	1		5
J + 7						1			1	2
J + 8	3	2	1	1					1	8
J + 9							2		1	3
J + 10						2		1	2	5
Total	4	6	3	3	3	5	4	2	10	40

Pour cette expérimentation la mortalité semble répartie de manière relativement homogène dans le temps et entre les bacs (Table 2-9). Deux pics de mortalité sont toutefois identifiables. L'un a eu lieu à J + 4, avec 8 décès répartis sur 6 bacs (deux témoins, trois de concentration la plus basse et un de concentration la plus haute) et correspond à un problème d'aération des bacs. L'autre est à J + 8, avec toujours 8 décès touchant 5 bacs (trois témoins, un de concentration la plus basse et un de concentration la plus haute). Sur l'ensemble des bacs, le bac 9 (haute concentration) est celui qui présente la plus forte mortalité (10 décès) et contrairement aux autre bacs cette mortalité est quasiment quotidienne (Table 2-9), seul J + 1 et J + 6 ne présentant pas de décès. Le test de Kruskall-Wallis ne révèle pas de différence significative de mortalité entre les conditions (χ^2 = 0,301, ddl =2, p = 0,860).

III.A.2 - Morphologie des individus

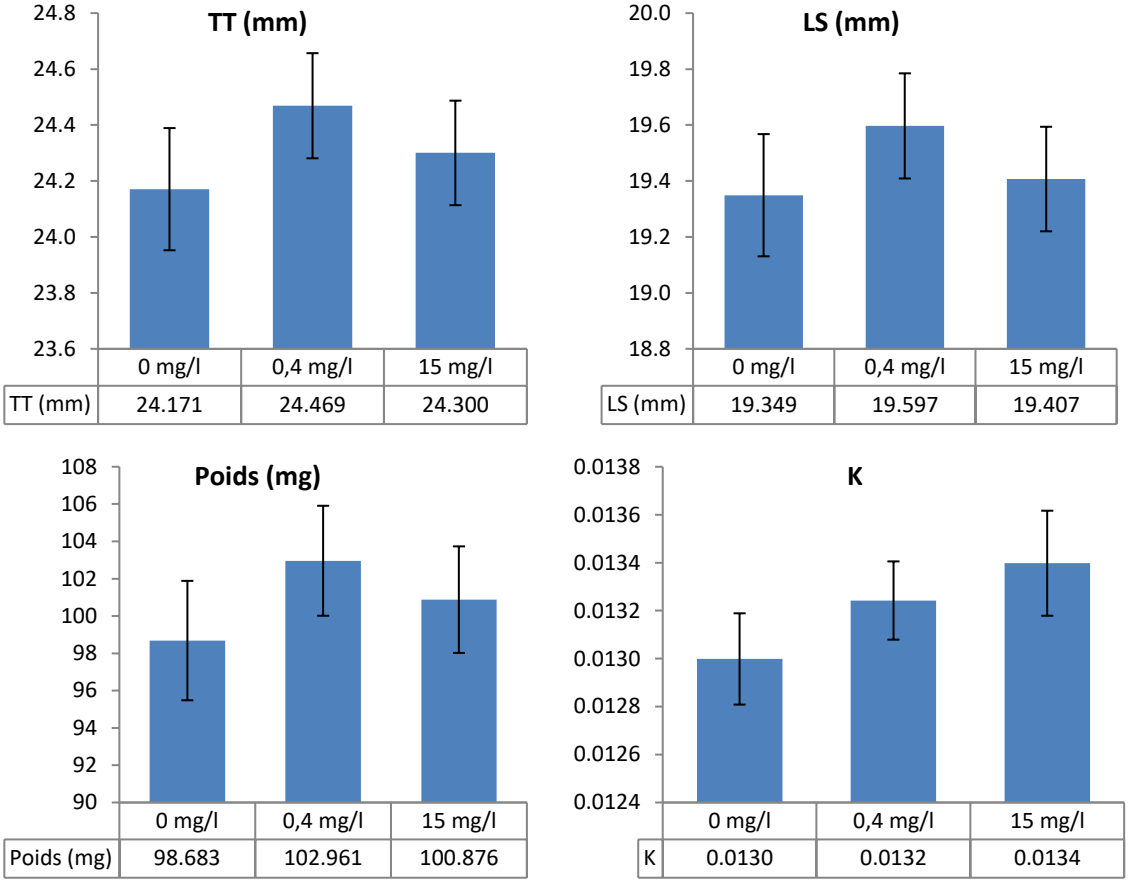


Figure 2-21 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, variables morphologiques par traitement. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne de la série ± SE.

Une première observation des graphiques des différentes valeurs moyennes des paramètres morphologiques en fonction des conditions (Figure 2-21), indique pour les tailles (TT et LS) ainsi que pour le poids une même tendance. Bien que les barres d'erreur standard se chevauchent, la valeur moyenne de ces paramètres semble augmenter lorsque la concentration en Na_3PO_4 augmente pour passer de 0 (témoin) à 0,4 mg.l^{-1}, puis diminuer lorsque la concentration passe à 15 mg.l^{-1} :

TT (cm) : EDM : 2,417±0,022 ; 0,4 mg.l-1 : 2,447±0,019 ; 15 mg.l-1 : 2,430±0,019

LS (cm) : EDM : 1,935±0,015 ; 0,4 mg.l-1 : 1,960±0,015 ; 15 mg.l-1 : 1,941±0,013

Poids (g) : EDM : 0,099±0,003 ; 0,4 mg.l-1 : 0,103±0,003 ; 15 mg.l-1 : 0,101±0,003.

L'indice K quant à lui, même si une fois encore les barres d'erreur standard se chevauchent, semble croître du témoin à la concentration la plus élevée (EDM : 0,0130±0,0002 ; 0,4 mg.l^{-1} : 0,0132±0,0002 ; 15 mg.l^{-1} : 0,0134±0,0002).

Afin de déterminer s'il existe une différence significative entre les moyennes des différents traitements pour chaque paramètre, une ANOVA a été utilisée, les conditions d'application de ce test ayant été validées. Aucune différence significative entre les traitements n'a été observée (TT : $F_{2,381}$=0,570, p=0,570 ; LS : $F_{2,381}$=0,800, p=0,450 ; poids : $F_{2,381}$=0,506, p=0,603 ; K : $F_{2,381}$=0,700, p=0,499).

III.A.3 - Analyses de l'asymétrie

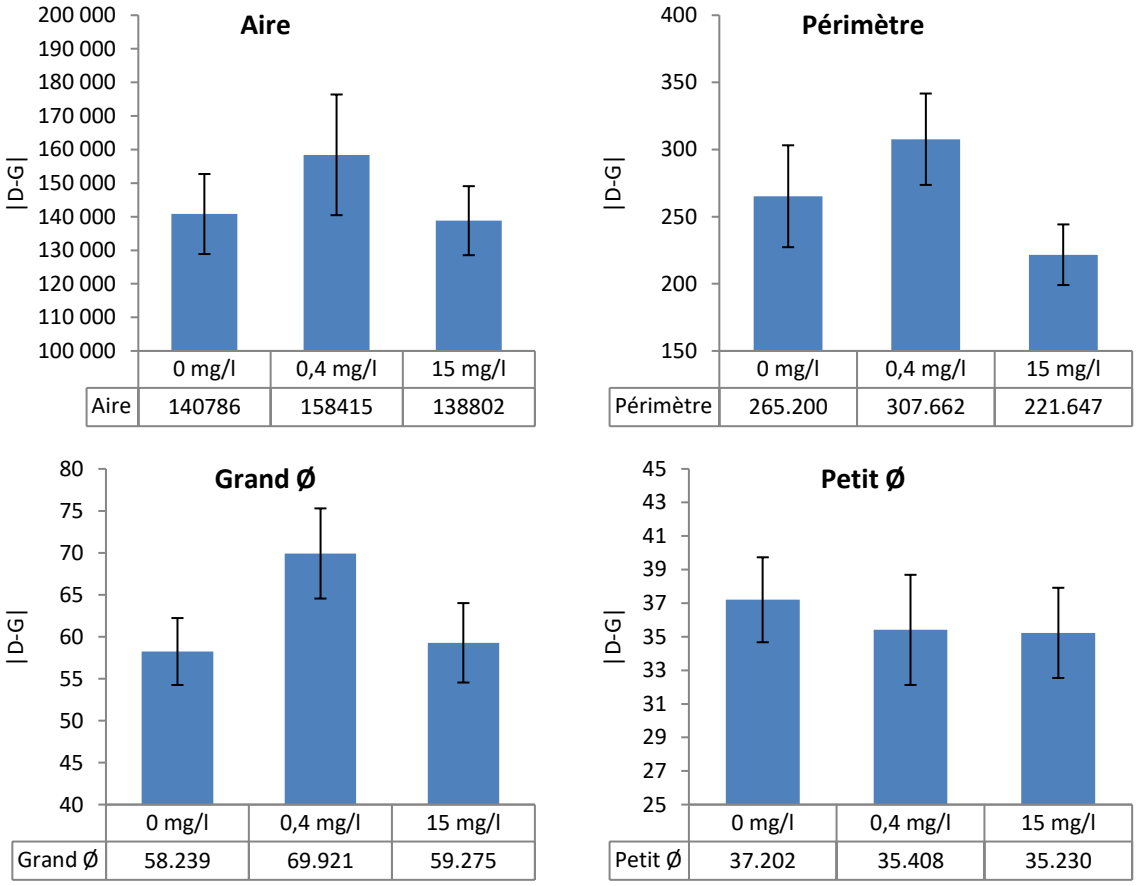


Figure 2-22 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, asymétrie absolue par paramètre. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne de la série en pixels ± SE.

L'observation des valeurs moyennes (Figure 2-22) d'asymétrie absolue nous permet d'identifier une tendance commune à l'aire, au périmètre et au grand diamètre de la BFE : par rapport à la condition témoin l'asymétrie moyenne des *sagittae* semble être plus importante à 0,4 mg.l^{-1}, et diminuer à 15 mg.l^{-1} où elle ne semble pas différente de celle du témoin (ou plus faible). Aucune tendance ne semble ressortir du petit diamètre de la BFE. A la vue des barres d'erreur standard, les différences ne semblent pas significatives.

Afin de qualifier l'asymétrie mesurée d'AF, la normalité et l'absence d'AD des jeux de données ont été vérifiées. Pour l'ensemble des données la normalité est respectée, sauf dans le cas du périmètre pour la condition témoin (p<0,01) et pour l'aire au niveau du bac 6

(p<0,05). Une AD a été détectée au niveau du bac 5 pour le grand diamètre de la BFE. Pour comparer les moyennes des différentes conditions pour les différents paramètres, une ANOVA à un facteur (concentration, puis bac) a été réalisée. Seule une différence très significative a été identifiée pour le périmètre entre les bacs ($F_{8,327}$=2,891, p=0.004).

III.A.4 - Analyse de formes

Pour cette expérimentation, nous avons complété nos résultats par une analyse de formes des otolithes. Cette analyse a été réalisée sur les contours des otolithes droits de chaque paire, sauvés sous la forme de chaînes de codes. Ils ont alors été utilisés comme base pour la réalisation d'une analyse elliptique de Fourier. Afin de décrire ces contours avec une précision moyenne de 99%, nous avons utilisé 12 harmoniques.

III.A.4.a - Analyse des variances multivariée

Dans un premier temps les coefficients des harmoniques 2 à 12 ont été utilisés pour comparer les bacs d'une même condition entre eux à l'aide d'une MANOVA (Table 2-10) afin de déterminer s'il existe un effet bac. Les coefficients a, b et c de la première harmonique ayant des valeurs constantes du fait de la standardisation (a_1=1, b_1=0, c_1=0), cette harmonique a été écartée.

Table 2-10 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, MANOVA, comparaisons des bacs par concentration.

		Ddl	Wilks	approx F	p
0 mg.l^{-1}	**Bacs**	2	0,485	1,0205	0,446
	Résidus	146			
0,4 mg.l^{-1}	**Bacs**	2	0,431	1,2121	0,135
	Résidus	145			
15 mg.l^{-1}	**Bacs**	2	0,522	0,8918	0,727
	Résidus	145			

Aucune différence significative de forme d'otolithes entre les bacs d'une même condition n'a été révélée par ce test, rejetant l'hypothèse d'un effet bac. Les différentes concentrations ont donc été comparées les unes par rapport aux autres indépendamment des bacs. Comme précédemment cette comparaison a été effectuée à l'aide d'une MANOVA (Table 2-11).

Table 2-11 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, MANOVA, comparaisons des concentrations.

	Ddl	Wilks	approx F	p
Concentrations	2	0,777	1,220	0,092
Résidus	442			

Cette comparaison ne révèle pas de différence significative de forme d'otolithes entre les différentes concentrations testées.

III.A.4.b - Analyse canonique des coordonnées principales

Afin de compléter ces résultats, une analyse canonique des composantes principales (CAP) a aussi été réalisée. Comme pour les MANOVAs, les bacs d'une même concentration ont d'abord été comparés entre eux (Table 2-12, Figure 2-23).

Table 2-12 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, CAP, comparaisons des bacs par concentration. Harmoniques 2 à 12 utilisées. m : nombre d'axes « *principal component ordination* » (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation. Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué. T, B1, B2, B3 etc. : Total, Bac 1, Bac 2, Bac 3 etc.

	0 mg.l^{-1}	**0,4 mg.l^{-1}**	**15 mg.l^{-1}**
m	35	33	34
N	T : 149	T : 148	T : 148
	B1 : 51	B4 : 52	B7 : 52
	B2 : 49	B5 : 51	B8 : 47
	B3 : 49	B6 : 45	B9 : 49
Variation	99,89%	99,82%	99,86%
Groupes	3	3	3
Seuil	33,33%	33,33%	33,33%
Succès d'allocation	T : 40,27%	T : 43,24%	T : 37,84%
	B1 : 44,14%	B4 : 42,31%	B7 : 32,69%
	B2 : 44,90%	B5 : 37,255%	B8 : 44,68%
	B3 : 32,65%	B6 : 51,111%	B9 : 36,73%
δ^2	0,318	0,331	0,215
p	0,186	0,078	0,919

Validation croisée			
	B1	**B2**	**B3**
B1	22	11	18
B2	15	22	12
B3	18	15	16
	B4	**B5**	**B6**
B4	22	16	14
B5	22	19	10
B6	11	11	23
	B7	**B8**	**B9**
B7	17	17	18
B8	15	21	11
B9	13	18	18

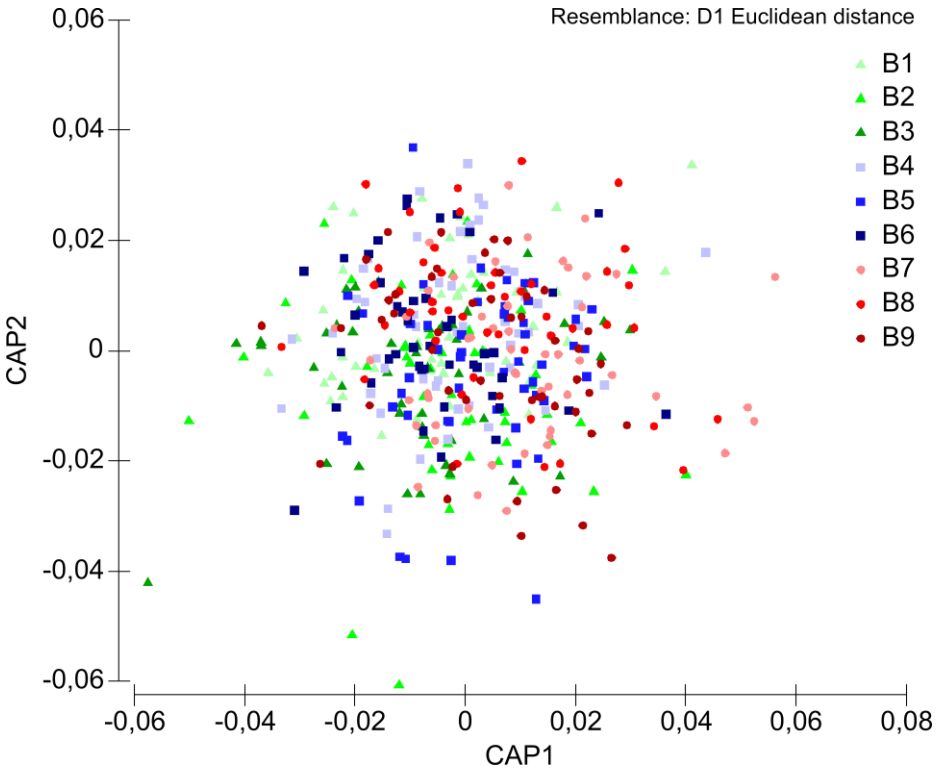


Figure 2-23 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, CAP, comparaisons des bacs par concentration. Projection des individus selon les axes CAP 1 et 2. Harmoniques 2 à 12 utilisées.

Aucune différence significative de forme d'otolithes entre les bacs d'une même concentration n'a été mise en évidence par cette analyse. En effet, le taux de succès d'allocation sont proches de ceux qui est attendu du simple fait du hasard est de l'ordre de 1/nombre de groupes (Anderson *et al.*, 2008), donc dans notre cas 33,33%. Les différentes concentrations ont alors été comparées les unes aux autres sans tenir compte des bacs, toujours par CAP (Table 2-13, Figure 2-24).

Table 2-13 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, CAP, comparaisons des concentrations. Harmoniques 2 à 12 utilisées. m : nombre d'axes « *principal component ordination* » (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation. Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué.

	Concentration	
m		41
N	**Total**	445
	0 mg.l^{-1}	149
	0,4 mg.l^{-1}	148
	15 mg.l^{-1}	148
Variation		99,97%
Groupes		3
Seuil		33,33%
Succès d'allocation	**Total**	39,78%
	0 mg.l^{-1}	38,26%
	0,4 mg.l^{-1}	35,81%
	15 mg.l^{-1}	45,27%
δ^2		0,126
p		0,162

Validation croisée			
	0 mg.l^{-1}	**0,4 mg.l^{-1}**	**15 mg.l^{-1}**
0 mg.l^{-1}	57	47	45
0,4 mg.l^{-1}	48	53	47
15 mg.l^{-1}	45	36	67

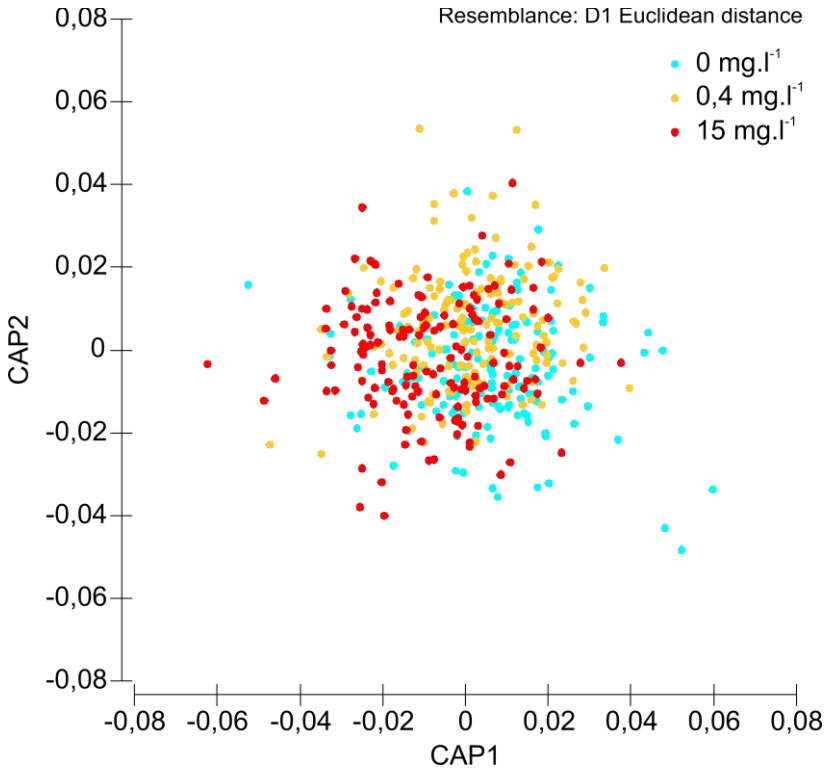


Figure 2-24 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, gamme de concentrations, CAP, comparaisons des concentrations. Projection des individus selon les axes CAP 1 et 2. Harmoniques 2 à 12 utilisées.

De nouveau, avec un classement correct total de 39,78% proche du résultat attendu d'une répartition aléatoire et confirmée par la valeur élevée de la p-value du test de

permutation (0,162), ainsi que la projection des individus selon les axes 1 et 2 de la CAP (Figure 2-24) aucune différence significative de forme d'otolithes entre les concentrations n'a pu être mise en évidence à l'aide de cette analyse.

En parallèle de ces calculs, l'observation des formes moyennes des otolithes correspondant aux différentes conditions testées ne fait pas apparaître de modification marquée du contour potentiellement associée à l'augmentation de la concentration en Na_3PO_4, seulement une tendance à une différence entre 0 mg.l^{-1} et la concentration la plus élevée (Figure 2-25).

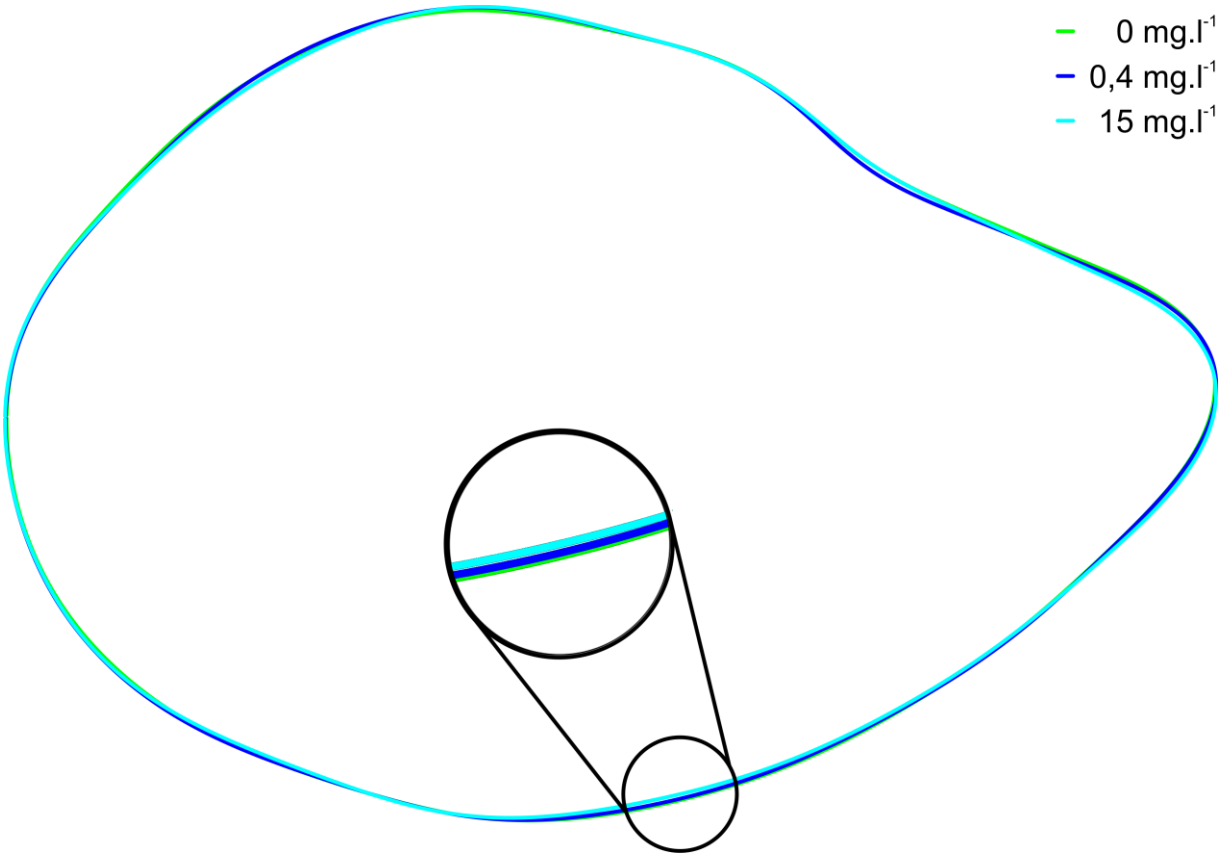


Figure 2-25 : *Dicentrarchus labrax*, Na_3PO_4, validation de la gamme de concentrations, superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes concentrations testées.
12 premières harmoniques utilisées. Vert : 0 mg.l^{-1} ; bleu : 0,4 mg.l^{-1} ; cyan : 15 mg.l^{-1}.

III.A.5 - Interprétation de ces résultats

Nous avons noté la forte mortalité rencontrée dans le bac 9, comparativement aux autres bacs. Comme précédemment, ce bac est le plus proche de l'entrée de la salle d'expérimentation. Ce bac est donc soumis à un niveau d'activité environnante plus important que les autres bacs. Cet environnement particulier peut avoir eu pour conséquence un stress plus important des poissons ayant conduit à une mortalité plus importante. De plus, la mortalité moyenne aurait dû être plus basse. En effet, suite à un problème électrique survenu

entre J + 3 et J + 4 l'aération a été interrompue dans l'ensemble des bacs durant une période comprise entre 0 et 20 heures, une durée proche de 20 heures étant soupçonnée étant donnée la mortalité à J + 4. Suite à cet incident, un minimum de 2 passages quotidiens a été planifié pour le reste des expérimentations. Finalement, aucune différence significative de mortalité n'existe entre les traitements.

Si nous nous intéressons maintenant aux paramètres morphologiques moyens dans les différentes conditions, nous constatons une augmentation non significative des différents paramètres pour les deux concentrations de Na_3PO_4 par rapport aux valeurs de la condition témoin :

- TT : 0,4 mg.l^{-1} : +1,24% 15mg.l^{-1} : +0,54%
- Ts : 0,4 mg.l^{-1} : +1,29% 15mg.l^{-1} : +0,31%
- Poids : 0,4 mg.l^{-1} : +4,04% 15mg.l^{-1} : +2,02%
- K : 0,4 mg.l^{-1} : +1,54% 15mg.l^{-1} : +3,08%.

Cela tendrait à monter un effet positif de Na_3PO_4 sur la croissance des individus. Notons que cette évolution est globalement similaire à celle observée par Tang et al (Tang *et al.*, 2012) où de faibles concentrations présentent un effet positif plus important. La forte mortalité rencontrée dans le bac 9 pourrait avoir biaisé les résultats du traitement à 15 mg.l^{-1}. Afin de vérifier cela, les calculs ont été une nouvelle fois effectués pour cette condition sans prendre en compte les individus du bac 9. Les résultats obtenus restent toutefois similaires aux précédents, avec une absence de différence significative entre les traitements.

En ce qui concerne l'AF, nous doutons de l'effet bac, un seul paramètre (Gangestad & Thornhill, 1999; Palmer & Strobeck, 2003b; Van Dongen, 2006), le périmètre, présentant un effet (Palmer & Strobeck, 2003b), mais aussi du fait de l'imprécision de mesure liée à ce paramètre. Les données d'asymétrie présentent des profils intéressants ressemblant à ceux de tailles et de poids, à l'exception du petit diamètre de la BFE qui ne semble pas varier. Une différence notable est toutefois à signaler : la valeur moyenne pour la concentration 15 mg.l^{-1} semble cette fois inférieure ou égale à la valeur du témoin. La tendance est donc à une augmentation de l'AF avec la plus faible concentration en Na_3PO_4 et un retour à la valeur de base voir une diminution de cette AF pour la plus forte concentration. Cette observation peut être expliquée en la mettant en parallèle avec l'effet plus important d'une plus faible concentration de Na_3PO_4 sur la croissance (Tang *et al.*, 2012). En effet une croissance plus

rapide peut être associée à une diminution de la stabilité du développement mesurée par une augmentation de l'AF (Robinson & Wardrop, 2002; Eriksen *et al.*, 2006; Turner *et al.*, 2007; Gagliano & McCormick, 2009). Toutefois aucune différence entre les concentrations n'est significative.

Concernant l'analyse de formes, il n'existe aucune différence significative entre les différentes concentrations testées, indiquant une absence possible d'influence du Na_3PO_4 sur la forme des otolithes.

En conclusion, le Na_3PO_4 ne présente pas d'effet significatif sur la mortalité et la croissance des individus, ni sur l'asymétrie ni sur la forme des otolithes. Ces résultats ne confirment pas l'effet positif du phosphate sur la croissance des individus décrit dans la littérature (Hepher & Sandbank, 1984; Nwanna *et al.*, 2008).

III.B - Zinc, test de différentes concentrations

III.B.1 - Essai de gamme et de pic de concentration

L'objectif de cette expérimentation était de tester l'effet du zinc sur le développement d'une asymétrie au niveau des *sagittae* de *D. labrax*. Les concentrations de $ZnCl_2$ utilisées dans cette expérience ont été de 0,35 mg.l^{-1} (0,168 mg.l^{-1} Zn^{2+}), 3,5 mg.l^{-1} (1,679 mg.l^{-1} Zn^{2+}) et 35 mg.l^{-1} (16,794 mg.l^{-1}) sur 10 jours, et 35 mg.l^{-1} durant 24 heures puis diminution à 3,5 mg.l^{-1} jusqu'à la fin de l'expérimentation (simulation d'un pic de contamination). Ces concentrations, bien qu'entre 17 et 1700 fois supérieures aux concentrations environnementales maximales de la littérature, correspondent aux valeurs moyennes de NOEC chroniques pour poissons multipliées par 1, 10 et 100 (Pichard *et al.*, 2005a).

800 poissons âgés de 51 jours ont été reçus puis acclimatés durant cinq jours avant d'être exposés durant 10 jours. La densité des individus était de 60 individus par bac. Les conditions des 10 bacs sont les suivantes :

- bacs 1, 2, 3 : Témoin (EDM)
- bacs 4, 5, 6 : $ZnCl_2$ 0,35 mg.l^{-1}
- bac 10 : $ZnCl_2$ 3,5 mg.l^{-1}
- bacs 7, 8 : $ZnCl_2$ 35 mg.l^{-1} 24 heures puis 3,5 mg.l^{-1}
- bac 9 : $ZnCl_2$ 35 mg.l^{-1}.

III.B.1.a - Mortalité

Table 2-14 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, essai de gamme et de pic de concentration, suivi de mortalité. En bleu : bacs témoins en eau de mer ; en vert : $ZnCl_2$ 0,35 mg.l^{-1} ; en rouge clair : $ZnCl_2$ 3,5 mg.l^{-1} ; en rouge : $ZnCl_2$ 35 puis 3,5 mg.l^{-1} ; en rouge foncé : $ZnCl_2$ 35 mg.l^{-1} . Les Bacs 7 et 8 ont été exposés à une concentration de $ZnCl_2$ de 35 mg.l^{-1} durant 24 heures puis à une concentration de 3,5 mg.l^{-1} jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Temps	Bacs										
	1 EDM	2 EDM	3 EDM	4 0,35	5 0,35	6 0,35	10 3,5	7 35/3,5	8 35/3,5	9 35	Total
J + 1								32	38	28	98
J + 2						1		5	6	8	20
J + 3	2				1					1	4
J + 4	1									1	2
J + 5											0
J + 6					1	1					2
J + 7				1							1
J + 8		1	1	1	2						5
J + 9			1	1	2						4
J + 10		2	3	2		3	2		1		13
Total	3	3	5	5	6	5	2	37	45	38	149

D'après les informations de suivi de mortalité pour cette expérimentation (Table 2-14), deux pics de mortalité sont observables. Le premier à J + 1 et J + 2, de forte amplitude, ne concerne que les bacs à une concentration initiale de 35 mg.l^{-1} de $ZnCl_2$, avec 118 décès sur 48 heures. Un second pic, modeste, est observable à J + 10, avec cette fois 6 bacs de conditions différentes qui sont touchés (deux témoins, deux à 0,35 mg.l^{-1}, un à 3,5 mg.l^{-1} et un à 35/3,5 mg.l^{-1}). Mis à part dans les trois bacs ayant été exposés initialement à une concentration de $ZnCl_2$ de 35 mg.l^{-1}, les décès sont répartis de manière homogène, avec une mortalité par bac comprise entre 2 et 6 en fin d'expérimentation. Si nous considérons l'ensemble des conditions testées, le test de Kruskall-Wallis ne révèle aucune différence entre les mortalités (χ^2=8,006, ddl = 4, p = 0,091). En revanche, si nous considérons les bacs exposés au moins 24 heures à la concentration la plus élevée comme un seul groupe, alors il existe au moins une différence significative de mortalité entre les groupes (χ^2=8,006, ddl = 3, p = 0,046).

III.B.1.b - Morphologie des individus

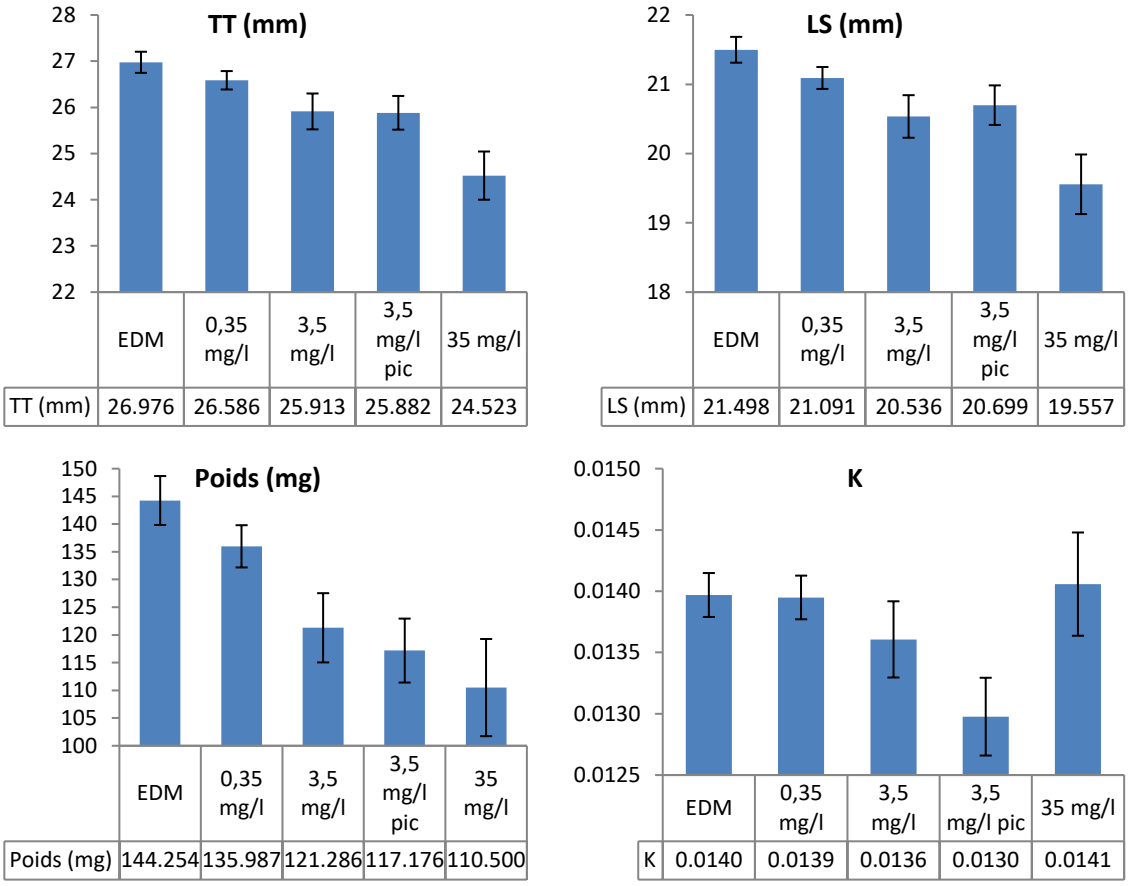


Figure 2-26 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, essai de gamme et de pic de concentration, variables morphologiques par traitement.
Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne de la série ± SE.

Une première observation des graphiques des différentes valeurs moyennes des paramètres morphologiques en fonction des conditions (Figure 2-26) nous permet de constater une tendance à la diminution des valeurs avec l'augmentation des concentrations, sauf pour K à la concentration la plus élevée. Cette observation laisse *a priori* supposer une différence significative au moins entre la condition témoin et la plus forte concentration utilisée.

Afin de confirmer cela, et après vérification des conditions d'application, une ANOVA a été effectuée sur chacun de ces paramètres. Cette ANOVA révèle la présence d'une différence significative entre les différentes conditions, ou traitements, pour la TT ($F_{4,372}$=5,620, p=2,12.10^{-4}), la LS ($F_{4,372}$=5,440, p=2,87.10^{-4}) et le poids ($F_{4,372}$=4.,666, p=1,10.10^{-3}), pas pour K. Un test post-hoc, le *Unequal N Honestly Significant Difference* (UN-HSD), a alors été utilisé afin d'identifier entre quels traitements se situaient ces différences. Concernant la TT, nous notons une différence significative entre la condition témoin et la concentration la plus élevée de 35 mg.l^{-1} (UN-HSD p=9,893.10^{-3}), et entre la concentration la plus faible (0,35 mg.l^{-1}) et la

plus élevée (UN-HSD p=4,820.10^{-2}). Concernant la LS, ce test révèle une différence significative entre la condition témoin et la concentration la plus élevée (UN-HSD : p= 1,169.10^{-2}). Enfin, concernant le poids, bien que l'ANOVA mette en évidence des différences significatives entre les conditions, le test post-hoc UN-HSD ne permet pas de les localiser.

III.B.1.c - Analyses de l'asymétrie

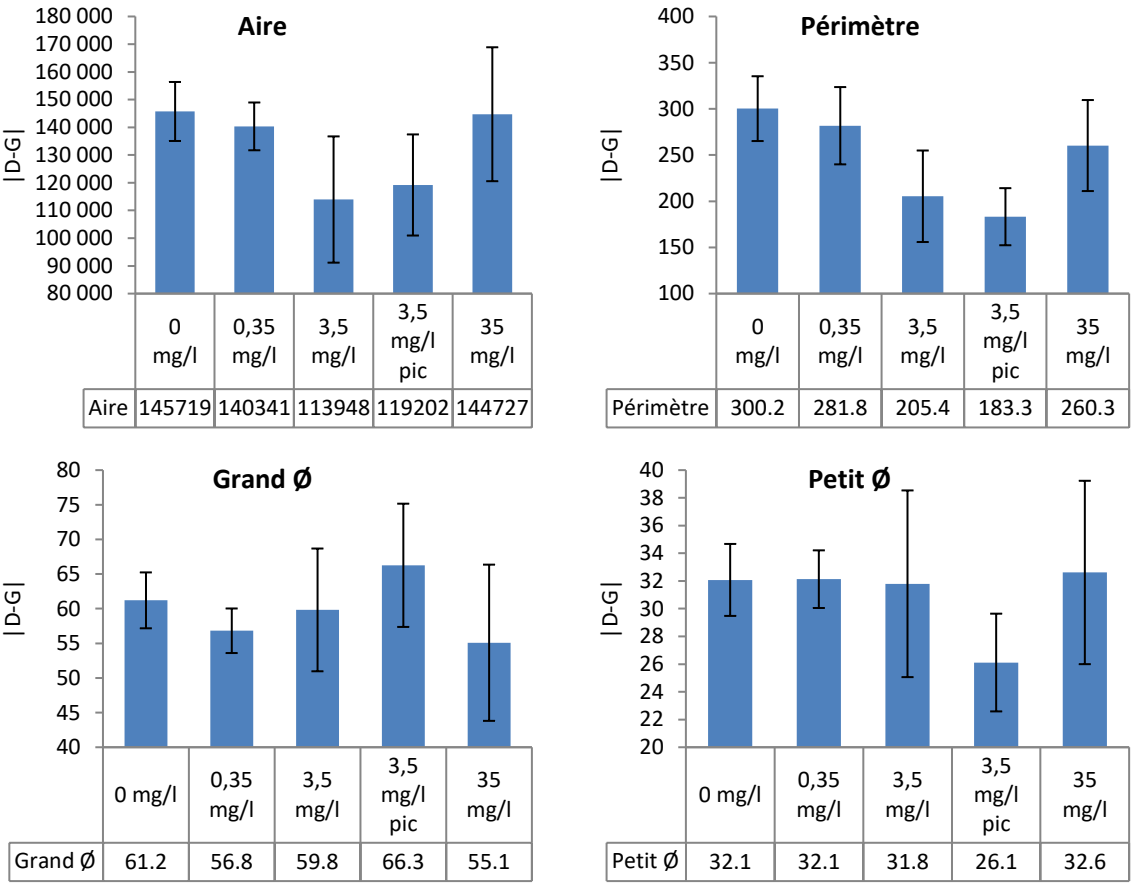


Figure 2-27 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, essai de gamme et de pic de concentration, asymétrie absolue par paramètre. Chaque barre d'histogramme représentre la valeur moyenne de la série en pixels ± SE.

L'observation des valeurs moyennes d'asymétrie absolue (Figure 2-27) met en évidence une asymétrie de l'aire légèrement moins importante que pour la condition témoin pour une concentration de 3,5 mg.l^{-1} de $ZnCl_2$, qu'un pic de concentration à 35 mg.l^{-1} ait été subi ou non. Cette tendance se retrouve aussi pour le périmètre. Aucune tendance ne semble ressortir des deux diamètres de la BFE. Cependant au regard de l'importance des barres d'erreur standard, les différences ne semblent pas significatives. L'augmentation apparente de SE avec la concentration correspond à des valeurs de N plus faibles pour les plus fortes concentrations en raison de la mortalité plus forte et du nombre de bacs moins important.

D'un point de vue statistique, hormis pour le périmètre pour les conditions témoin et 0,35 mg.l^{-1} ($p<0,05$) ainsi que pour les bacs 4 ($p<0,01$) et 5 ($p<0,05$), l'ensemble des données

respectent la condition de normalité. Quatre AD significatives ont été identifiées : le grand diamètre pour la concentration avec pic (p=0,049), l'aire du bac 5 (p=0,048), le périmètre du bac 9 (p=0,047) et le grand diamètre du bac 2 (p=0,048). A la vue de ces résultats l'asymétrie rencontrée semble pouvoir être qualifiée d'AF. Nous avons donc utilisé deux ANOVAs à un facteur (concentration, puis bac) pour déterminer s'il existait une différence significative entre les niveaux d'AF. Aucune différence significative n'a été mise en évidence.

III.B.1.d - Interprétation de ces résultats

Etant donné la forte concentration de $ZnCl_2$ employée en phase de pic, les mortalités relevées pendant 48 heures ne sont pas étonnantes. En revanche le suivi de la mortalité du bac 9 dans lequel cette concentration a été maintenue tout au long de cette expérimentation est beaucoup plus intéressant. L'absence de mort passé le 4ème jour d'exposition est en effet étonnante. Ce bac n'ayant pas été répliqué il serait facile d'associer cela au hasard. Cependant, les valeurs de mortalité similaires entre les témoins négatifs et la concentration de 0,35 mg.l^{-1}, ainsi qu'entre les concentrations 3,5 mg.l^{-1} avec et sans pic après les 48 premières heures, laissent penser à une absence de différence de mortalité entre les conditions témoin, 0,35 et 3,5 mg.l^{-1}. Seule la concentration de 35 mg.l^{-1} semble donc entraîner une surmortalité significative, l'absence de mort après le 4ème jour laissant supposer la survie des seuls individus tolérants à cette concentration de $ZnCl_2$. Si tel est le cas, alors les individus restants dans les 2 bacs à 3,5 mg.l^{-1} après pic sont eux aussi tolérants aux fortes concentrations de $ZnCl_2$ et leurs résultats ne sont donc pas totalement comparables à ceux des bacs n'ayant pas subi de pic.

Les informations de tailles et de poids apportent un autre éclairage. En effet, nous notons une tendance d'effet de toutes les concentrations sur ces tailles (TT et LS) ainsi que sur le poids, l'ensemble de ces valeurs diminuant avec l'augmentation de la concentration. Cela est d'autant plus flagrant si nous regardons les valeurs par rapport au témoin :

- TT : 0,35 mg.l^{-1} : -1,45% ; 3,5 mg.l^{-1} : -3,97% ; 35/3,5 mg.l^{-1} : -4,08% ; 35 mg.l^{-1} : -9,12%
- LS : 0,35 mg.l^{-1} : -1,91% ; 3,5 mg.l^{-1} : -4,47% ; 35/3,5 mg.l^{-1} : -3,72% ; 35 mg.l^{-1} : -9,02%
- Poids : 0,35 mg.l^{-1} : -5,56% ; 3,5 mg.l^{-1} : -15,97% ; 35/3,5 mg.l^{-1} : -18,75% ; 35 mg.l^{-1} : -22,92%.

Si K semble confirmer ces tendances pour les trois premières conditions, la valeur pour la condition 35 mg.l^{-1} vient perturber notre lecture avec une valeur environ équivalente à celle des témoins. Cela peut s'expliquer une fois de plus par la méthode de calcul de cet indice (poids/taille^3). Cet indice nous indique uniquement que les poissons sous 35 mg.l^{-1}, en plus d'être en moyenne les plus légers par rapport à ceux des autres bacs, sont apparemment les plus petits à poids identique. L'augmentation de cet indice est donc dans ce cas le signe d'un effet négatif du traitement. Dans le cas des conditions 3,5 mg.l^{-1}, avec ou sans pic de concentration, la diminution de cet indice devrait montrer une prise de poids moindre à taille équivalente que pour la condition témoin, ce qui serait un signe plus classique d'effet négatif du traitement sur la croissance. A l'exception des données de l'indice de condition, l'ensemble des tendances observées est vérifié statistiquement. Sauf pour le poids, le test post-hoc montre au minimum une différence significative entre la condition témoin et la concentration la plus élevée.

Du point de vue de l'asymétrie, les résultats obtenus sont moins évidents. En effet, la tendance est à une diminution de l'AF pour la concentration de 3,5 mg.l^{-1}, avec ou sans pic de concentration, pour l'aire et le périmètre, et rien pour les diamètres de la BFE. Ces résultats ne sont pas significatifs.

En conclusion, les données de mortalité et de croissance permettent de mettre en évidence un impact négatif du zinc sur le développement des poissons, pour des concentrations supérieures ou égale à 3,5 mg.l^{-1}, les données d'asymétrie n'apportent aucune information.

III.B.2 - Gamme de concentrations

Les essais ont été effectués sur 3 concentrations de $ZnCl_2$ (3,5 ; 7 et 17,5 mg.l^{-1}), sur la base de l'expérimentation précédente, afin d'en affiner les résultats. Cette expérimentation avait aussi pour objectif d'étudier la possibilité d'utiliser l'alizarine-red-s comme marqueur de croissance de l'otolithe.

Suite à des problèmes de livraison, les poissons étaient ici plus âgés : 60 jours à la réception, au lieu de 51 comme pour les deux expérimentations précédentes. 1000 poissons ont été ramenés de la ferme aquacole. A l'arrivée, après acclimatation à l'eau de mer artificielle, 250 individus ont été séparés du lot principal et placés dans un bac de 20 litres rempli à mi-volume et équipé d'un aérateur de 20 x 2 cm. Le lendemain ces poissons ont été exposés à une concentration d'alizarine-red-s de 200 mg.l^{-1} durant 9 heures. La totalité de l'eau de ce bac a

ensuite été renouvelée 3 fois. Après cette exposition les poissons ont été répartis à une densité de 60 individus par bac et acclimatés durant cinq jours avant d'être exposés durant 10 jours. Chaque concentration de $ZnCl_2$ a été répétée dans au moins 3 bacs, les concentrations les plus élevées ont été répliquées respectivement dans 4 et 5 bacs. Le premier bac de chaque condition a été rempli avec les poissons exposés à l'alizarine-red-s, les bacs 1 et 2 n'ayant pu être respectivement remplis que de 33 et 34 individus. Durant la phase d'acclimatation plusieurs problèmes techniques ont conduit à une perte équivalente à 6 bacs sur les 15 initialement prévus. Les résultats de cette expérimentation sont donc à considérer avec précaution.

Les conditions des bacs sont les suivantes :

- bacs 1, 5 : Témoin (EDM)
- bacs 7, 8 : $ZnCl_2$ 3,5 $mg.l^{-1}$
- bacs 9, 10 : $ZnCl_2$ 7 $mg.l^{-1}$
- bacs 2, 6, 11 : $ZnCl_2$ 17,5 $mg.l^{-1}$.

III.B.2.a - Mortalité

Table 2-15 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, gamme de concentrations, suivi de mortalité.
En bleu : bacs témoins en eau de mer ; en vert : $ZnCl_2$ 3,5 $mg.l^{-1}$; en rose : $ZnCl_2$ 7 $mg.l^{-1}$; en rose foncé: $ZnCl_2$ 17,5 $mg.l^{-1}$.
*** : bacs dont les poissons ont été marqués à l'alizarine-red-s.**

Temps	Bacs									
	1*	5	7	8	9	10	2*	6	11	
	EDM	EDM	3,5	3,5	7	7	17,5	17,5	17,5	Total
J + 1			1				1	8	7	17
J + 2			4	7	3	10				24
J + 3			4	4	2	1	1			12
J + 4			2	2			2			6
J + 5			1	2						3
J + 6										0
J + 7										0
J + 8		2								2
J + 9		1								1
J + 10								1		1
Total	0	3	12	15	5	11	4	9	7	66

Comme l'illustre la Table 2-15, la majorité des décès lors de cette expérimentation a eu lieu entre J + 1 et J + 3 (53 décès sur 66) et ne concerne pas les bacs témoins. Les bacs contenant des individus préalablement exposés à l'alizarine-red-s semblent présenter au final les taux de mortalité les plus faibles de leurs conditions respectives (0 décès pour la condition témoin et 4 pour la condition 17,5 $mg.l^{-1}$). Le test de Kruskall-Wallis ne révèle pas de différence significative de mortalité entre les traitements (χ^2=6,644, ddl = 3, p = 0,084).

III.B.2.b - Morphologie des individus

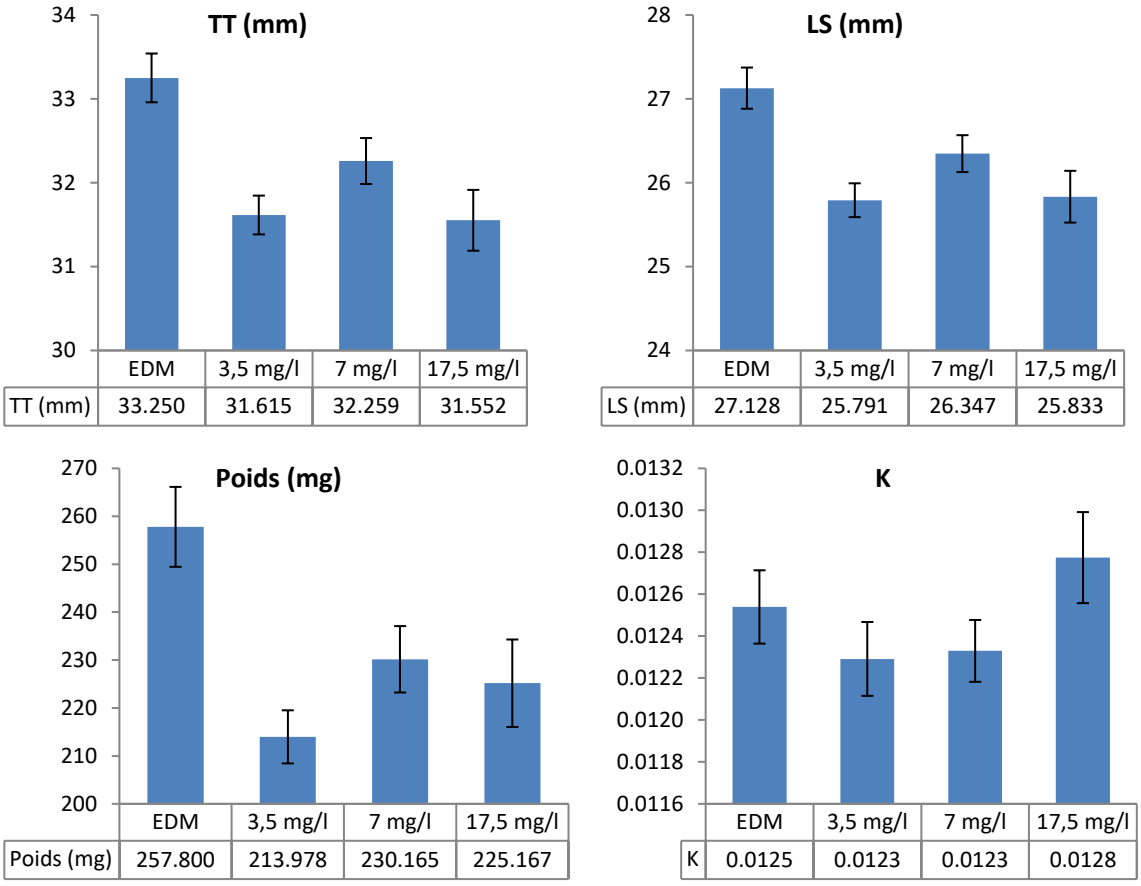


Figure 2-28 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, gamme de concentrations, variables morphologiques par traitement. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne de la série ± SE.

Une première observation des graphiques des différentes valeurs moyennes des paramètres morphologiques en fonction des conditions (Figure 2-28) permet de suggérer un effet négatif du $ZnCl_2$ sur le développement, avec diminutions de tailles et poids, aux différentes concentrations utilisées. Il ne semble pas y avoir d'effet pour l'indice K. Une différence possiblement significative semble exister entre la condition témoin et les autres conditions, pour la TT, la LS et le poids, mais pas pour K.

Après vérification de conditions d'application correctes (même si le test de Levene est significatif pour le poids, $p=6{,}348.10^{-3}$ (McGuinness, 2002)), une ANOVA a été effectuée sur chacun de ces quatre paramètres. Elle a révélé l'existence d'au moins une différence significative entre les traitements pour chacun de ces paramètres excepté K. Afin d'identifier les conditions présentant une différence significative, un test post-hoc UN-HSD a été réalisé. Concernant la TT, le test UN-HSD fait apparaitre trois différences vis-à-vis de la condition témoin, l'une extrêmement significative avec la concentration la plus faible ($p= 7{,}8.10^{-5}$), une autre très significative avec la concentration la plus élevée ($p= 5{,}033.10^{-3}$) et une tout juste

significative avec la concentration intermédiaire (7 mg.l^{-1}, p= 4,482.10^{-2}). Concernant la LS, le test UN-HSD met en évidence deux différences vis-à-vis de la condition témoin, l'une très significative avec la concentration la plus faible (UN-HSD p= 1,290.10^{-4}), l'autre significative avec la concentration la plus élevée (UN-HSD p= 1,339.10^{-2}). Enfin concernant le poids, toujours vis-à-vis de la condition témoin, le test UN-HSD fait apparaître une différence extrêmement significative avec la concentration la plus faible (p= 5,2.10^{-5}) et y ajoute une différence significative avec la concentration intermédiaire (p= 3,11.10^{-2}).

III.B.2.c - Analyses de l'asymétrie

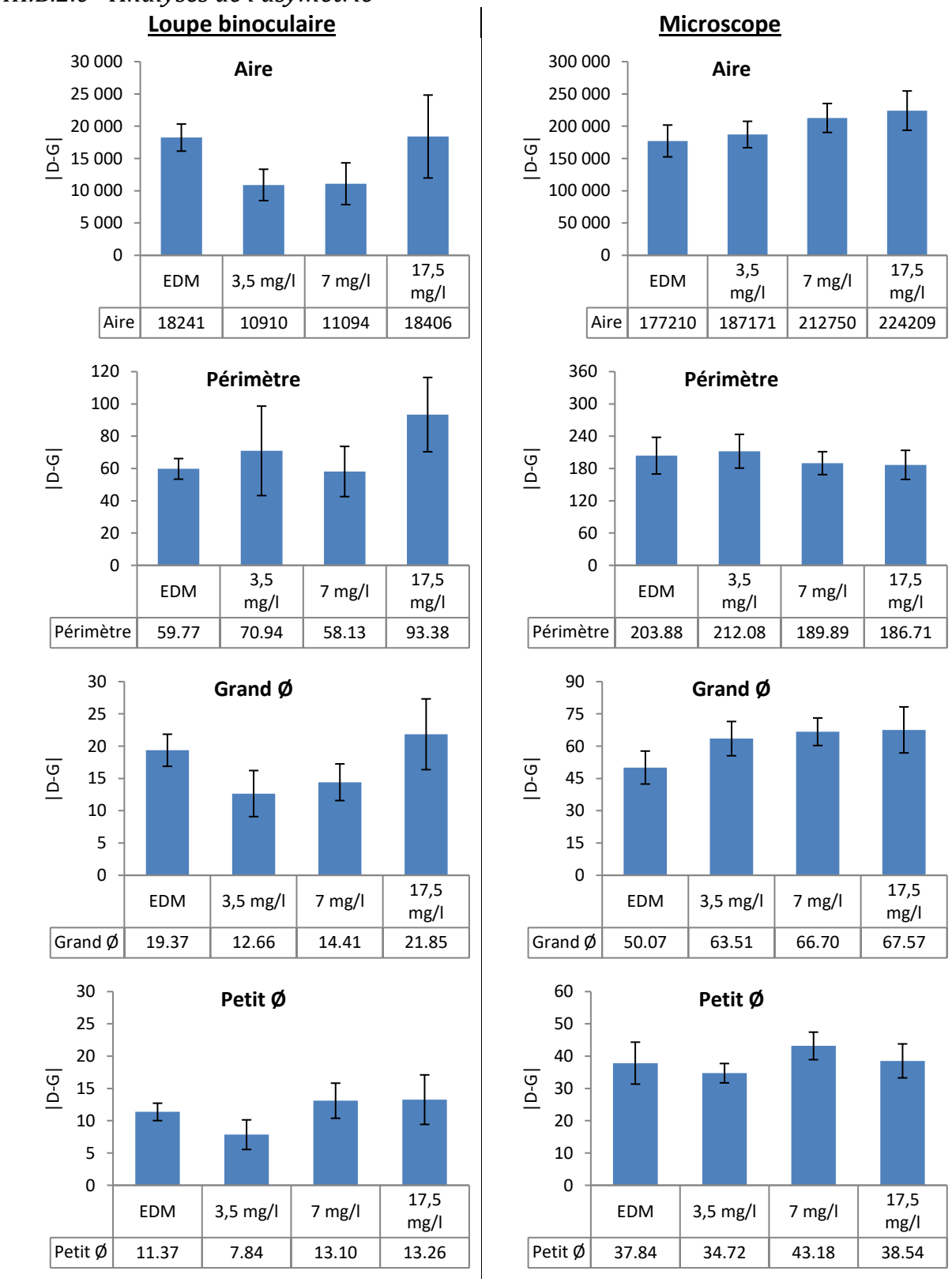


Figure 2-29 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, gamme de concentrations, asymétrie absolue par paramètre. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne de la série en pixels ± SE.

Pour cette expérimentation d'une gamme de concentrations de $ZnCl_2$, une partie des échantillons présentant une taille trop importante pour être mesurés de manière classique à l'aide du microscope a été photographiée sous loupe binoculaire. L'outil utilisé étant différent, les mesures obtenues ont été analysées séparément.

Concernant les individus, minoritaires (65 individus), observés à la loupe binoculaire (Figure 2-29, partie de gauche), l'ensemble des paramètres excepté le périmètre présentent une tendance proche, avec une asymétrie égale ou plus faible que celle du témoin pour la concentration la plus basse et une ré-augmentation de cette asymétrie pour la concentration la plus élevée.

Concernant les individus, majoritaires (218 individus), observés au microscope (Figure 2-29, partie de droite), une tendance pour l'aire et pour le grand diamètre de la BFE peut être notée : l'asymétrie moyenne augmente progressivement de la condition témoin à la concentration la plus élevée. Aucune tendance particulière ne semble ressortir pour le périmètre et le petit diamètre de la BFE. Encore une fois, les différences ne semblent pas significatives.

Du point de vue statistique, pour l'ensemble des données de cette expérimentation la condition de normalité est respectée et aucune AD n'a été mise en évidence, quel que soit l'appareil de mesure utilisé. Le respect de ces conditions permet donc de parler ici d'AF et d'utiliser deux ANOVAs à un facteur (concentration, puis bac). Aucune différence significative n'a été identifiée.

III.B.2.d - Interprétation de ces résultats

La majorité des décès a eu lieu lors des 3 premiers jours d'exposition. Passés ces premiers jours la mortalité retombe pour l'ensemble des bacs à un niveau équivalent à celui rencontré précédemment. Cette mortalité, vis-à-vis des autres expérimentations effectuées sur le chlorure de zinc (ci-avant et ci-après), est étonnante pour plusieurs raisons :

- la mortalité pour les bacs de plus faible concentration est, comparativement aux concentrations plus élevées, étonnamment haute. Cela est d'autant plus étonnant que les individus étaient ici plus âgés (67 jours) en début d'exposition que les précédents en fin d'expérimentation (66 jours), donc supposés plus résistants ;

- la mortalité dans les bacs témoins et dans la seconde moitié de l'expérimentation est proche de 0.

Une explication plausible réside dans les problèmes survenus durant l'acclimatation et ayant conduit à une perte équivalente à 6 bacs, comme indiqué précédemment. Il est donc raisonnable d'imaginer que les individus les plus fragiles aient succombés durant cette période, favorisant la présence d'individus plus résistants. Toutefois, aucune différence significative de mortalité n'a été rencontrée entre traitements. Enfin, nous confirmons que l'alizarine-red-s n'a pas d'effet négatif sur les poissons. Ce marquage n'a toutefois pas pu être exploité.

Du point de vue des caractéristiques morphologiques, la comparaison des valeurs moyennes pour les conditions témoin et les traitements $ZnCl_2$ révèle des diminutions des paramètres à l'exception de l'indice de condition. Les valeurs moyennes pour la concentration 3,5 $mg.l^{-1}$ vis-à-vis de la condition témoin sont du même ordre de grandeur que celles rencontrés précédemment :

- TT : précédente : -3,97% actuelle : -4,90%
- LS : précédente : -4,47% actuelle : -4,97%
- Poids : précédente : -15,97% actuelle : -17,05%
- K : précédente : -2,86%% actuelle : -1,60%.

Ces résultats rassurent quant à la validité de nos données malgré les problèmes rencontrés durant la phase d'acclimatation. L'existence pour chaque paramètre, à l'exception de l'indice de condition (pour lequel nous avons déjà donné les limites vu son mode de calcul), d'une différence significative entre la condition témoin et au moins la concentration 3,5 $mg.l^{-1}$, et souvent aussi la concentration 17,5 $mg.l^{-1}$, semble donc réelle.

Comme précédemment, les données d'asymétrie n'apportent aucune information statistiquement significative.

En conclusion, malgré les soucis techniques rencontrés durant la phase d'acclimatation et un profil de mortalité différent de celui rencontré précédemment, nous notons un effet négatif significatif du $ZnCl_2$ sur la croissance des juvéniles de *D. labrax* âgés de 67 jours pour une exposition de 10 jours à une concentration supérieure ou égale à 3,5 $mg.l^{-1}$. En revanche, l'étude de l'AF (de l'aire, du périmètre et des deux diamètres de la BFE) des *sagittae* n'a apporté aucun résultat significatif.

III.B.3 - Validation de la gamme de concentrations

L'expérimentation précédente ayant rencontré des problèmes d'ordre technique, l'objectif était ici d'obtenir des résultats fiables. Cette expérimentation est menée sur des individus de 51 jours à la réception, l'âge des poissons est donc comparable à celui des tests sur le phosphate ainsi que durant les essais de gamme de concentrations. En plus des témoins, les concentrations de $ZnCl_2$ utilisées ont été cette fois 3,5 $mg.l^{-1}$, 10,5 $mg.l^{-1}$, et 17,5 $mg.l^{-1}$. Chaque concentration est répétée au moins dans 3 bacs, les concentrations les plus élevées étant répliquées respectivement dans 4 et 5 bacs.

1000 individus âgés de 51 jours ont été ramenés de la ferme aquacole. Ils ont alors été aclimatés durant cinq jours avant d'être exposés durant 10 jours. La densité en poissons utilisée pour cette expérimentation était de 60 individus par bac.

Les conditions des 15 bacs sont les suivantes :

- bacs 1, 5, 10 : Témoin eau de mer (0 $mg.l^{-1}$)
- bacs 2, 6, 11 : $ZnCl_2$ 3,5 $mg.l^{-1}$
- bacs 3, 9, 12, 15 : $ZnCl_2$ 10,5 $mg.l^{-1}$
- bacs 4, 7, 8, 13, 14 : $ZnCl_2$ 17,5 $mg.l^{-1}$.

III.B.3.a - Mortalité

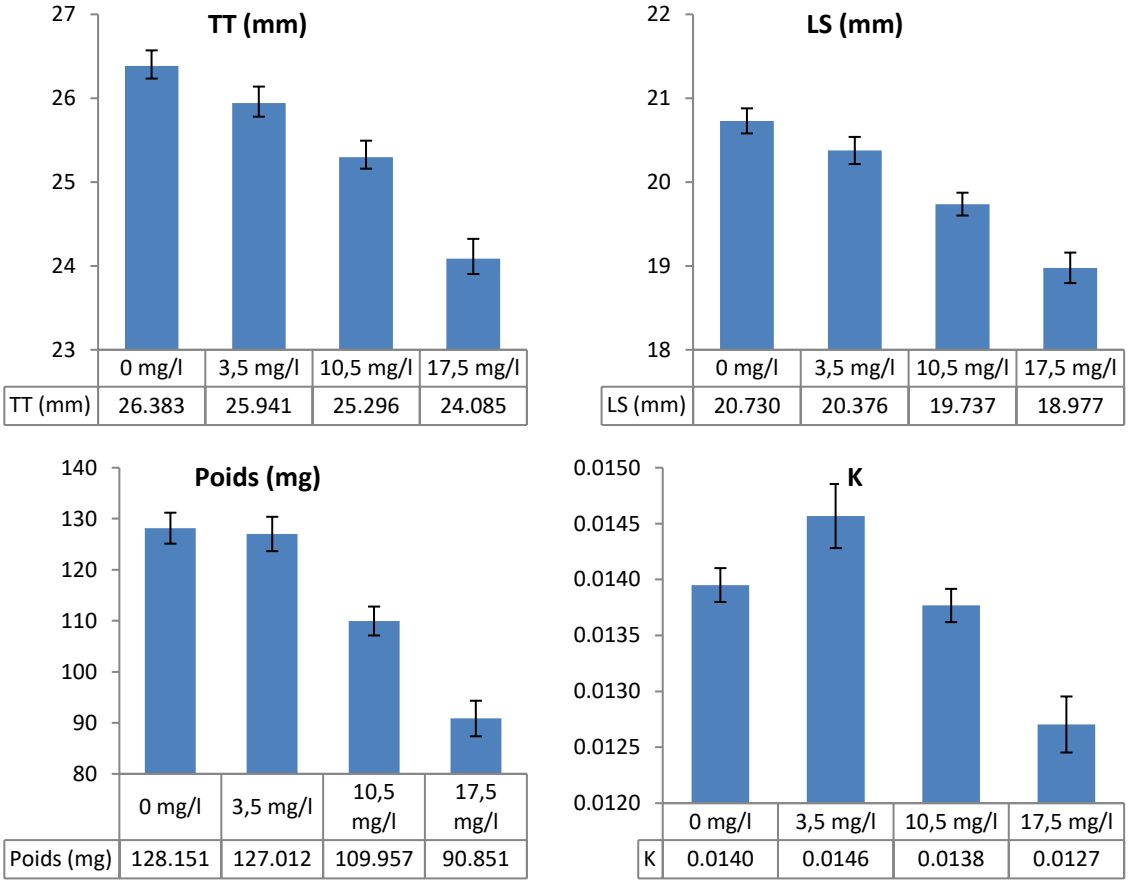
Table 2-16 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, suivi de mortalité.
En bleu : bacs témoins en eau de mer ; en vert : $ZnCl_2$ 3,5 $mg.l^{-1}$; en rose : $ZnCl_2$ 10,5 $mg.l^{-1}$; en rose foncé : $ZnCl_2$ 17,5 $mg.l^{-1}$.

Temps	Bac															
	1	5	10	2	6	11	3	9	12	15	4	7	8	13	14	
	0	0	0	3,5	3,5	3,5	10,5	10,5	10,5	10,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	Total
J + 1	1		1		1	1	9	1	1	21	27	21	23	32	29	168
J + 2			2			1	4	1	1	1	10	7	4	11	8	50
J + 3	1		1			1		4					1			8
J + 4					1	2					2				1	6
J + 5				1			1	2	3	1			1			9
J + 6	1		1		1	1		2	3	2	1	1	1	2	2	18
J + 7								1	2	2				1	1	7
J + 8	1					1	3	4	2			1		2	1	15
J + 9	1	1					2			1	2	1	1			9
J + 10		1	1				1		1							4
Total	5	2	6	1	3	7	20	15	13	28	42	31	31	48	42	294

Les données présentées dans la Table 2-16 mettent en évidence trois pics de mortalité. Le premier est le plus intense, a lieu à J + 1 et concerne toutes les conditions, avec 13 bacs sur 15 touchés, même si les bacs de plus fortes concentrations de $ZnCl_2$ (10,5 $mg.l^{-1}$ et 17,5 $mg.l^{-1}$) sont les plus touchés (avec 164 décès sur 168). Cette tendance se poursuit à J + 2 (47 décès sur 50) pour disparaître par la suite. Un second pic nettement plus faible peut être noté à J + 6 avec 18 décès répartis sur 12 bacs, toutes les conditions étant encore une fois touchées mais

de manière plus homogène. Enfin un dernier pic également plus faible apparaît à J + 8 avec 15 décès répartis sur 8 bacs de toutes les conditions mais légèrement plus élevés dans les bacs exposés à une concentration de 10,5 mg.l^{-1} de $ZnCl_2$. Le test de Kruskall-Wallis met en évidence des différences significatives (χ^2 = 12,428, ddl = 3, p = 0,006) de mortalité entre les différentes conditions. Hormis entre la condition témoin et la plus faible concentration (3,5 mg.l^{-1}), le test post-hoc non paramétrique de Nemenyi met en évidence des différences significatives de mortalité entre chacune des conditions.

III.B.3.b - Morphologie des individus



	0 mg/l	3,5 mg/l	10,5 mg/l	17,5 mg/l
TT (mm)	26.383	25.941	25.296	24.085

	0 mg/l	3,5 mg/l	10,5 mg/l	17,5 mg/l
LS (mm)	20.730	20.376	19.737	18.977

	0 mg/l	3,5 mg/l	10,5 mg/l	17,5 mg/l
Poids (mg)	128.151	127.012	109.957	90.851

	0 mg/l	3,5 mg/l	10,5 mg/l	17,5 mg/l
K	0.0140	0.0146	0.0138	0.0127

Figure 2-30 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, variables morphologiques par traitement.
Chaque barre d'histogramme représentre la valeur moyenne de la série ± SE.

Une première observation des graphiques des différentes valeurs moyennes des paramètres morphologiques en fonction des conditions (Figure 2-30) semble indiquer une possible relation entre les valeurs moyennes des différents paramètres observés et les concentrations de $ZnCl_2$ utilisées. La valeur moyenne ± SE pour une concentration donnée semble être systématiquement supérieure ou égale à celle de la concentration directement

supérieure (TT et LS : EDM > 3,5 mg.l^{-1} > 10,5 mg.l^{-1} > 17,5 mg.l^{-1} ; poids : EDM ≈ 3,5 mg.l^{-1} > 10,5 mg.l^{-1} > 17,5 mg.l^{-1}). Cette tendance se retrouve pour K à partir de 3,5 mg.l^{-1}.

Afin de comparer les moyennes des différents traitements, une ANOVA a été envisagée. Pour déterminer la faisabilité de ce test, la normalité des différentes conditions de chaque paramètre a été vérifiée. Seules les valeurs de K pour la condition témoin ($p<0,01$) et la plus faible concentration (3,5 mg.l^{-1} : $p<0,01$) ne présentent pas une distribution normale, rejetant l'utilisation d'un test paramétrique pour comparer les différentes conditions pour cet indice. Pour les trois autres paramètres, après vérification de leur homoscédasticité pour les différentes concentrations et même si les variances des différentes conditions pour le poids ne sont pas homogènes ($p=3,28.10^{-2}$) (McGuinness, 2002), une ANOVA à un facteur (traitement) a été réalisée. Cette ANOVA a permis de mettre en évidence au moins une différence extrêmement significative entre les traitements, pour la TT, la LS et le poids ($p<10^{-6}$). Un test post-hoc UN-HSD a ensuite été réalisé sur ces paramètres (Table 2-17).

Table 2-17 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, comparaison des traitements par variables morphologiques, UN-HSD.
Significativité : ** p<0,01 ; *** p<0,001.

TT	**0 mg.l^{-1}**	**3,5 mg.l^{-1}**	**10,5 mg.l^{-1}**	**17,5 mg.l^{-1}**
0 mg.l^{-1}				
3,5 mg.l^{-1}	3,818E-1			
10,5 mg.l^{-1}	5,060E-4 **	8,313E-2		
17,5 mg.l^{-1}	8,000E-6 ***	8,000E-6 ***	3,190E-3 **	
LS	**0 mg.l^{-1}**	**3,5 mg.l^{-1}**	**10,5 mg.l^{-1}**	**17,5 mg.l^{-1}**
0 mg.l^{-1}				
3,5 mg.l^{-1}	3,526E-1			
10,5 mg.l^{-1}	3,100E-5 ***	1,497E-2 *		
17,5 mg.l^{-1}	8,000E-6 ***	9,000E-6 ***	2,337E-2 *	
Poids	**0 mg.l^{-1}**	**3,5 mg.l^{-1}**	**10,5 mg.l^{-1}**	**17,5 mg.l^{-1}**
0 mg.l^{-1}				
3,5 mg.l^{-1}	9,934E-1			
10,5 mg.l^{-1}	2,300E-4 **	6,900E-4 **		
17,5 mg.l^{-1}	8,000E-6 ***	8,000E-6 ***	2,565E-3 *	

Quel que soit le paramètre, la condition témoin ne présente pas de différence avec la concentration faible (3,5 mg.l^{-1}) mais en présente avec les deux concentrations les plus élevées. De même, la concentration la plus élevée (17,5 mg.l^{-1}) présente, quel que soit le paramètre observé, des différences significatives avec l'ensemble des autres conditions. Enfin la concentration 10,5 mg.l^{-1} présente des différences significatives, pour l'ensemble des paramètres, avec l'ensemble des autres conditions, sauf pour la taille totale avec la concentration faible (3,5 mg.l^{-1}).

Comme indiqué précédemment, l'utilisation d'un test paramétrique pour déterminer si une différence significative existe entre les moyennes des différentes conditions pour K n'est

pas possible. Pour pallier à ce problème le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé, révélant l'existence d'au moins une différence significative ($p<10^{-6}$) entre les différentes conditions. Vu les limites de K de par son mode de calcul, nous n'avons pas exploité davantage ce paramètre.

III.B.3.c - Analyses de l'asymétrie

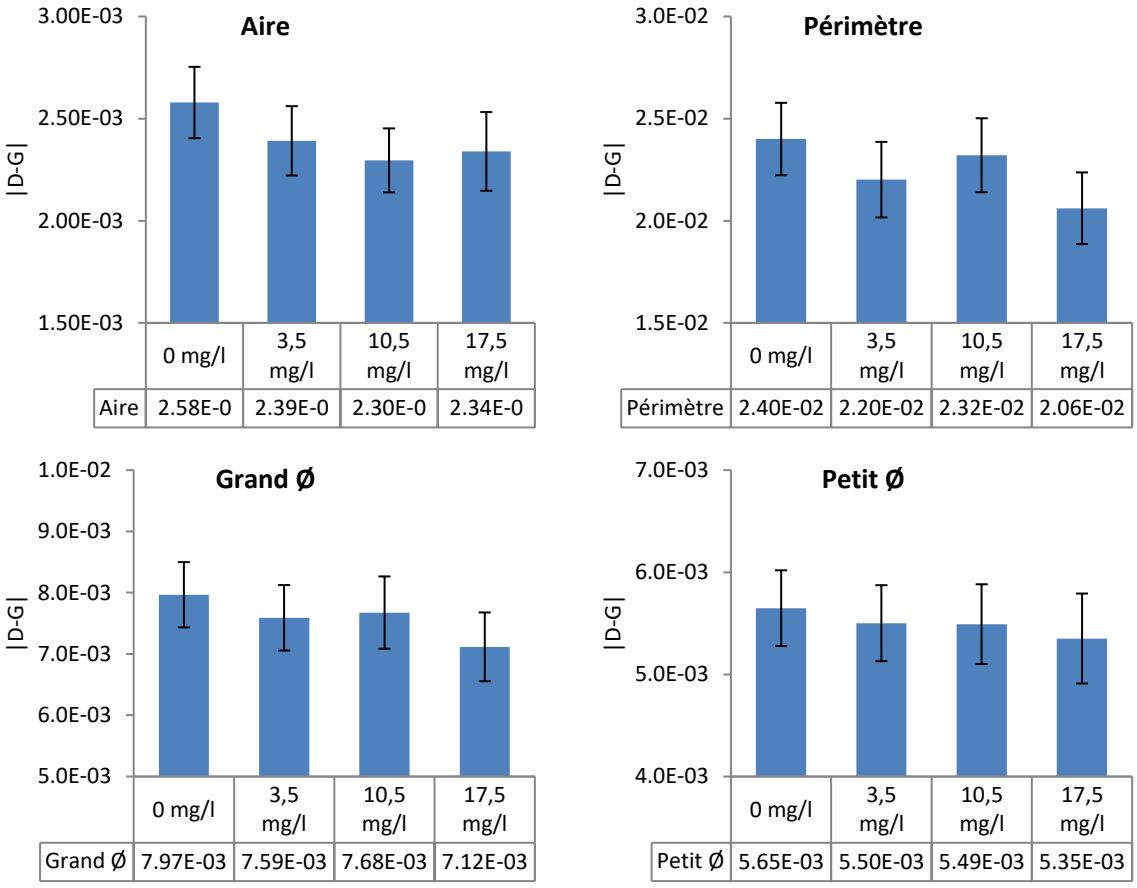


Figure 2-31 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, asymétrie absolue par paramètre. Chaque barre d'histogramme représentre la valeur moyenne de la série en mm² ou millimètres ± SE.

Nous nous intéressons maintenant aux valeurs moyennes d'asymétrie absolue dans l'expérimentation de validation de gamme de concentrations de $ZnCl_2$ (Figure 2-31). La tendance générale qui semble apparaitre pour l'ensemble des quatre paramètres observés est une diminution de l'asymétrie moyenne en présence de $ZnCl_2$. Cependant cette diminution est faible et l'importance des barres d'erreur standard ne laisse pas penser qu'elle puisse être significative.

Concernant les analyses statistiques, toutes les données, tant au niveau des concentrations qu'au niveau des bacs, sont normales. Concernant l'AD, deux valeurs significatives peuvent être identifiées pour la concentration 10,5 $mg.l^{-1}$ (aire : p=0,047 ; petit diamètre : p=0,011), et trois pour les bacs (bac 3, petit diamètre : p=0,001 ; bac 11, aire : p=0,018 et petit diamètre :

p=0,037). Il est donc possible de parler ici d'AF et de réaliser deux ANOVAs à un facteur (concentration, puis bac) pour déterminer s'il existe une différence entre les moyennes des différents paramètres observés, entre les concentrations puis entre les bacs. Seule une différence significative entre les bacs pour le périmètre (donc un seul des paramètres, limitant la fiabilité de ce résultat (Gangestad & Thornhill, 1999; Palmer & Strobeck, 2003b; Van Dongen, 2006)) est révélée (p=0,030). Aucune différence entre concentrations pour aucun des paramètres n'est révélée par l'ANOVA.

III.B.3.d - Analyse de formes

Pour cette expérimentation, nous avons complété nos résultats par une analyse de formes des otolithes. Cette analyse a été réalisée sur les contours des otolithes droits de chaque paire, sauvés sous la forme de chaînes de codes. Ils ont alors été utilisés comme base pour la réalisation d'une analyse elliptique de Fourier. Afin de décrire ces contours avec une précision de 99,99%, nous avons utilisé 21 harmoniques.

Analyse en composantes principales

Nous nous sommes intéressés dans un premier temps à l'analyse en composantes principales (ACP) des formes des otolithes. Les quatre premières composantes principales (PC) expliquent plus de 60% de la variation, et ce que la première harmonique soit comprise dans l'analyse (63,3% de variation expliquée) ou non (60,4% de variation expliquée).

Nous avons réalisé une MANOVA à un facteur (concentration) sur les résultats de cette ACP (h1 : 21), en utilisant les coordonnées principales des individus comme variables. De cette manière des différences significatives entre les concentrations sont mises en évidences que quatre ($F_{3,560}$=5,461 ; p=3,614.10^{-9}), trois ($F_{3,560}$=7,172 ; p=3,192.10^{-10}) ou deux ($F_{3,560}$=4,162 ; p=3,810.10^{-4}) composantes principales soient retenues.

Afin d'identifier où se situent les différences entre les concentrations, une ANOVA a été réalisée pour chacune de ces quatre PC. Il en ressort qu'aucune différence significative n'existe pour les PC 1 ($F_{3,560}$=0,712 ; p=5,440.10^{-1}) et 4 ($F_{3,560}$=0,391 ; p=7,59.10^{-1}), mais que des différences significatives existent pour les PC 2 ($F_{3,560}$=7,662 ; p=5,000.10^{-5}) et 3 ($F_{3,560}$=12,689 ; p=4,922.10^{-8}). Le test post-hoc HSD de Tukey situe ces différences pour ces deux dernières PC entre le groupe des témoins et les concentrations de $ZnCl_2$ de 10,5 mg.l^{-1} (PC2 : p=1,570.10^{-2} ; PC3 : p= 7,740.10^{-4}) et de 17,5 mg.l^{-1} (PC2 : p= 6,600.10^{-5} ; PC3 : p= 8,000.10^{-6}), et entre la concentration de 3,5 mg.l^{-1} et la concentration de 17,5 mg.l^{-1} (PC2 : p=

$3{,}13.10^{-3}$; PC3 : p= $4{,}000.10^{-5}$) ; et pour la PC3 entre les concentrations de 3,5 $mg.l^{-1}$ et de 10,5 $mg.l^{-1}$ ($p=4{,}090.10^{-2}$).

Analyse canonique des coordonnées principales

Nous avons ensuite réalisé une analyse canonique des coordonnées principales (CAP) afin de savoir si, connaissant les groupes de conditions *a priori* (concentrations de $ZnCl_2$), il était possible de déterminer "*un axe à travers le nuage de points multivarié permettant de séparer le mieux possible les groupes.*" ([121]), en utilisant les informations de contour des otolithes.

Si nous nous intéressons au succès d'allocation dans les groupes (Table 2-18), nous constatons que les concentrations extrêmes, témoin et 17,5 $mg.l^{-1}$ de $ZnCl_2$, présentent les meilleurs taux d'allocation correcte, respectivement plus de 56,5% et plus de 39,3%, les deux concentrations intermédiaires présentant des taux d'allocation correcte autour de 30%. Ces valeurs sont intéressantes sachant qu'elles sont toutes supérieures à ce nous attendons du simple fait du hasard.

Table 2-18 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, résumé de la CAP.
Harmoniques 2 à 21 utilisées. m : nombre d'axes « *principal component ordination* » (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation.
Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué.

m		59
N	**Total**	564
	0 mg.l^{-1}	152
	3,5 mg.l^{-1}	154
	10,5 mg.l^{-1}	159
	17,5 mg.l^{-1}	99
Variation		99,88%
Groupes		4
Seuil		25%
Succès d'allocation	**Total**	38,83
	0 mg.l^{-1}	57,237%
	3,5 mg.l^{-1}	29,221%
	10,5 mg.l^{-1}	29,56%
	17,5 mg.l^{-1}	40,404%
δ^2		0,3649
p		$<10^{-4}$

Validation croisée				
	0 mg.l^{-1}	**3,5 mg.l^{-1}**	**10,5 mg.l^{-1}**	**17,5 mg.l^{-1}**
0 mg.l^{-1}	87	33	19	13
3,5 mg.l^{-1}	49	45	32	28
10,5 mg.l^{-1}	16	40	47	56
17,5 mg.l^{-1}	9	21	29	40

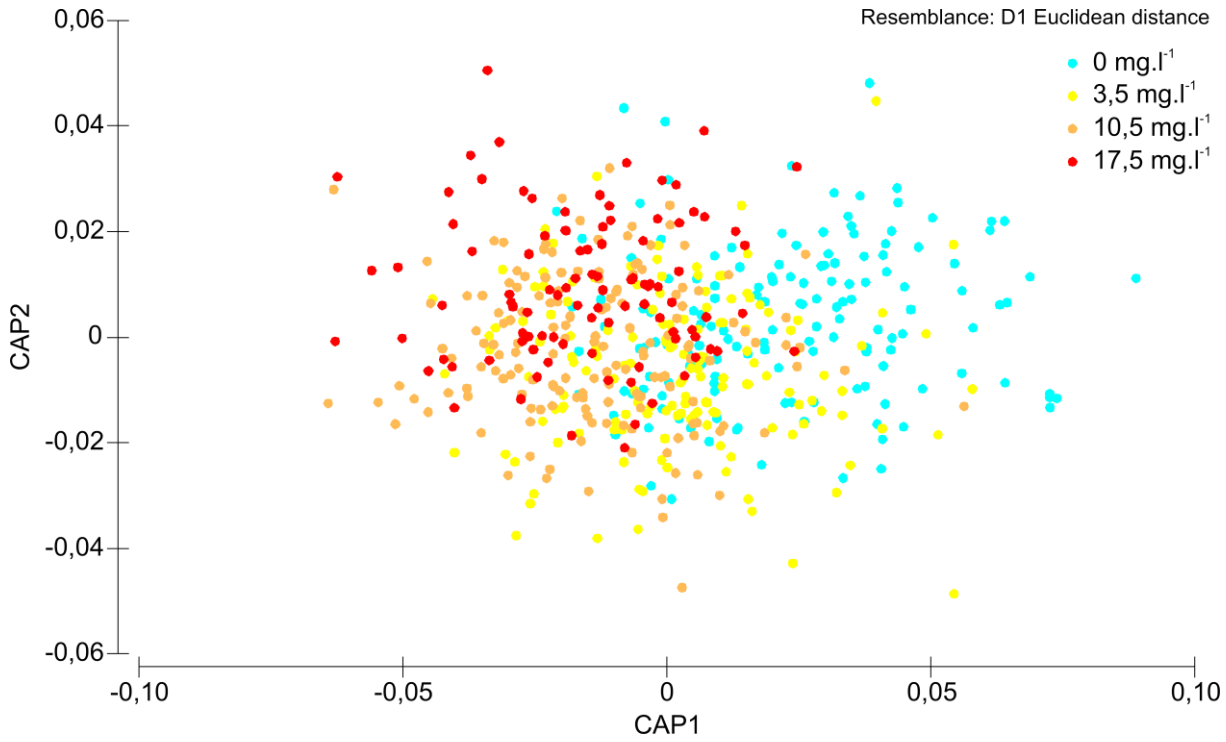


Figure 2-32 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, résumé de la CAP.
Projection des individus selon les axes CAP 1 et 2. Harmoniques 2 à 21 utilisées.

L'observation des résultats de validation croisée (allocation des individus dans les différents groupes) présentée à la Table 2-18, ainsi que la projection des individus selon les axes 1 et 2 de la CAP (Figure 2-32), nous permet de constater que les échecs d'allocation se font préférentiellement en faveur du groupe de concentration le plus proche. Nous pouvons en effet observer que le groupe témoin partage la majorité de ses échecs d'allocation avec le groupe 3,5 $mg.l^{-1}$, que ce dernier les partage de manière environ équivalente entre le groupe témoin et le groupe 10,5 $mg.l^{-1}$, qu'il en va de même pour le groupe 10,5 $mg.l^{-1}$ qui partage ses échecs d'allocation de manière presque équivalente entre les deux groupes l'encadrant, et que le groupe 17,5 $mg.l^{-1}$ présente la majorité de ses échecs d'allocation dans le groupe 10,5 $mg.l^{-1}$.

Vue la valeur très significative de la p-value du test de permutation confirmée par le classement correct lors de lavalidation croisée, une différence très significative de formes d'otolithes entre les concentrations a été mise en évidence à l'aide de cette analyse.

L'observation des formes moyennes des otolithes correspondant aux différentes conditions testées fait apparaître, en plus des différences identifiées entre concentrations, une modification de l'ensemble du contour potentiellement associée à l'augmentation de la concentration en $ZnCl_2$ (Figure 2-33).

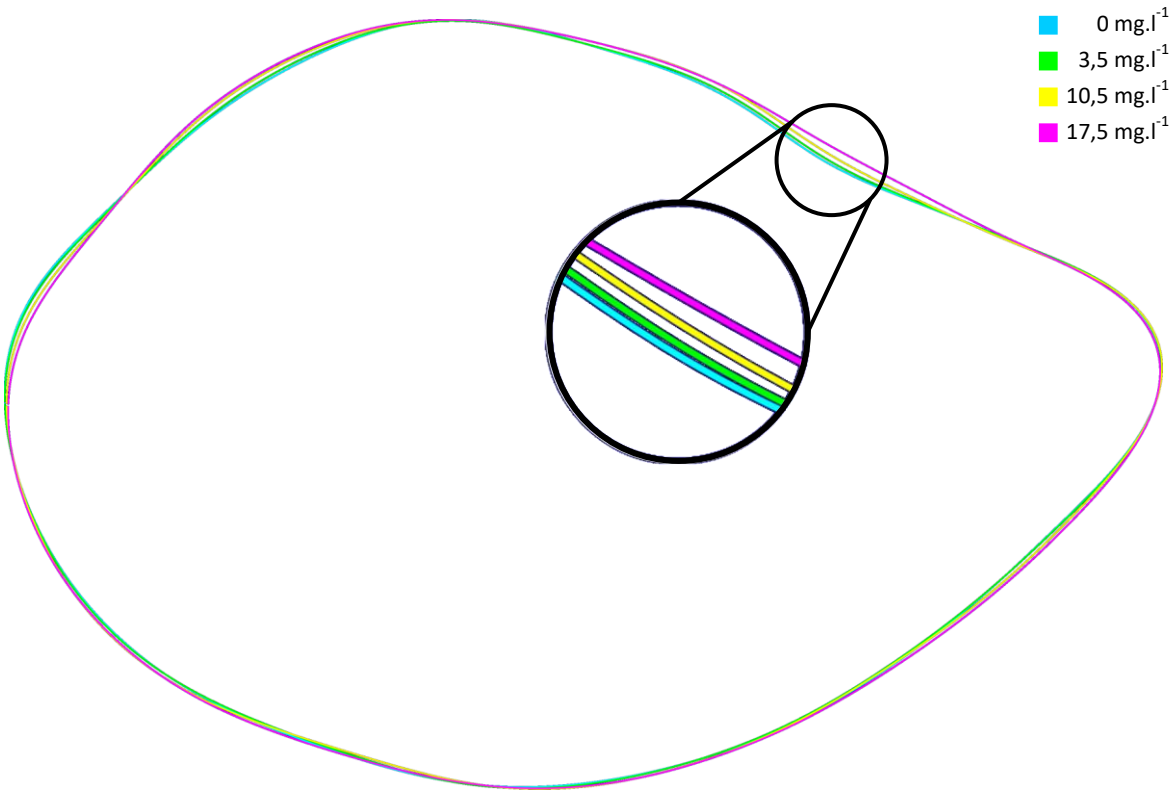


Figure 2-33 : *Dicentrarchus labrax*, $ZnCl_2$, validation de la gamme de concentrations, superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes concentrations testées.
21 premières harmoniques utilisées. Cyan : 0 mg.l^{-1} ; vert : 3,5 mg.l^{-1} ; jaune : 10,5 mg.l^{-1} ; magenta : 17,5 mg.l^{-1}.

III.B.3.e - Interprétation de ces résultats

L'âge des individus lors de cette expérimentation est équivalent à celui de l'expérimentation de gamme et pic de $ZnCl_2$. Nous retrouvons une mortalité importante les deux premiers jours pour les concentrations en $ZnCl_2$ les plus élevées (10,5 mg.l^{-1} : 16,25% et 17,5 mg.l^{-1} : 57,33%). Après ce pic, la mortalité redescend fortement, avec un nombre de décès moyen par jour inférieur à 1,5 pour l'ensemble des conditions. Deux autres pics de mortalité, de plus faible intensité, ont également été observés à J + 6 (18 morts) et J + 8 (15 morts), l'importance de ces nombres de décès étant toutefois à relativiser vu le nombre total de 15 bacs. Du point de vue global, hormis entre la condition témoin et la concentration la plus faible, des différences de mortalité significatives existent entre chaque condition.

Les tailles et le poids diminuent avec l'augmentation des concentrations en $ZnCl_2$. S'il n'y a pas de différence significative entre l'absence de $ZnCl_2$ et une concentration de 3,5 mg.l^{-1}, il existe, à une exception près (TT entre 3,5 et 10,5 mg.l^{-1}), systématiquement des différences significatives pour les tailles et le poids entre chaque niveau de concentration. Vu les limites de K de par son mode de calcul, nous n'avons pas exploité davantage ce paramètre.

En revanche il n'existe aucune différence significative pour l'AF des otolithes entre les différentes concentrations pour l'ensemble des paramètres étudiés.

Les analyses de forme des *sagittae* sont plus informatives. L'utilisation de l'analyse des variances sur les résultats d'ACP met en évidence l'absence de différence entre la condition témoin et la plus faible concentration, mais la présence de différences significatives entre ces deux conditions et les concentrations les plus élevées (10,5 et 17,5 $mg.l^{-1}$). Enfin, la CAP est très informative, avec de bons résultats pour le test d'allocation des individus aux groupes de concentrations de $ZnCl_2$. Cela soutient fortement l'hypothèse qu'une modification significative de la forme des otolithes existe suite à l'exposition de juvéniles de *D. labrax* à une gamme de concentrations de $ZnCl_2$, pour des concentrations supérieures à 3,5 $mg.l^{-1}$.

En conclusion, l'exposition de juvéniles de *D. labrax* à des concentrations supérieures à 3,5 $mg.l^{-1}$ de $ZnCl_2$ entraîne une mortalité significativement augmentée, une diminution significative de la croissance, pas de variation significative de l'asymétrie fluctuante au niveau des *sagittae* mais une modification significative de la forme des *sagittae*.

IV - Conclusions

IV.A - Maintien en aquarium

Les fortes mortalités constatées au début de la phase dite d'"acclimatation" ainsi que la faible prise de poids des individus comparée à la littérature (Girin & Person-Le Ruyet, 1977) indiquent des conditions de maintien pas totalement optimales mais correctes. L'âge précoce associé à l'utilisation d'aliments secs (Berg, 1985), déjà mis en évidence dans l'expérimentation de suivi de croissance, n'expliquent pas à eux seuls ces éléments. Les conditions de transport depuis la ferme aquacole jusqu'au laboratoire ainsi que les interventions quotidiennes sont aussi responsable d'un stress conduisant d'après la littérature à une surproduction de NH_3-N qui peut causer une diminution de la croissance (Betül *et al.*, 2011). Plusieurs éléments restent donc à mettre en place afin de minimiser le stress lié aux conditions de maintien. Les durées de transport ayant été réduites à leur maximum, il convient d'agir sur les autres principales sources de stress. En premier lieu, il faut diminuer les interventions au niveau des bacs. Si ces dernières restent nécessaires, leur réalisation doit être repensée. Le type de bac, par exemple, oblige une intervention directe pour l'élimination de la nourriture non consommée. L'utilisation de bacs coniques équipés d'un point de vidange situé en bas, ainsi que la mise en place d'un système de filtration éviterait d'intervenir à l'intérieur des bacs. En second lieu, une opacification de toutes les parois éviterait une influence des passages dans l'environnement proche des bacs, dans un local mieux adapté.

IV.B - Effets des substances chimiques testées

Chez *Dicentrarchus labrax*, pour des juvéniles âgés de 72 jours, une exposition à une concentration de $CuCl_2$ de 2 $mg.l^{-1}$ sur une période de 6 jours semble avoir un effet négatif, bien que non significatif, sur la survie des poissons (Annexe V). Cette exposition ne présente pas non plus d'effet significatif, comparativement aux témoins, sur la taille, le poids ou encore le niveau d'AF des *sagittae*. Vue la composition de l'eau de mer de synthèse (Annexe I), une concentration de cuivre très élevée par rapport à celles trouvées dans l'environnement serait à employer pour tenter de révéler un effet de ce métal face à un témoin déjà chargé en cuivre, ce qui ne présente pas d'intérêt comme test.

De même, le Na_3PO_4 ajouté à une concentration de 15 $mg.l^{-1}$ sur 6 jours semble présenter, chez des juvéniles de *D. labrax* âgés de 72 jours (Annexe V), un effet positif bien que non significatif sur la mortalité. Cette exposition ne semble cependant pas impacter la croissance,

ni l'AF des *sagittae* de ces individus. Les essais utilisant plusieurs concentrations sur 10 jours sur des juvéniles de 56 jours n'ont pas mis en évidence d'effet sur la mortalité et la croissance. Du point de vue de l'influence sur le développement, une concentration modérée (0,4 $mg.l^{-1}$) semble entraîner une croissance et un niveau d'AF des *sagittae* plus importants qu'une plus forte concentration (15 $mg.l^{-1}$), mais cet effet n'est pas significatif. Ces tendances ne sont pas confirmées par l'étude de la forme des *sagittae* qui ne montre aucune différence significative, pas même une tendance, entre les différentes conditions. Nos résultats ne correspondent pas à l'observation rapportée dans la littérature que des quantités modérées de Na_3PO_4 semble améliorer la croissance d'individus maintenus en conditions contrôlées (Hepher & Sandbank, 1984; Nwanna *et al.*, 2008; Tang *et al.*, 2012). Bien que les rejets de phosphate entraînent des impacts directs sur l'environnement (eutrophisation, etc.), nos résultats vont dans le sens d'une innocuité sur le développement des poissons.

L'exposition de juvéniles de *D. labrax* âgés de 56 à 67 jours à des concentrations supérieures à 3,5 $mg.l^{-1}$ de $ZnCl_2$ entraîne un pic de mortalité durant les deux premiers jours, suivi d'un retour à la normal. Une exposition de 10 jours au $ZnCl_2$ n'induit aucune modification significative de l'AF chez le juvénile de *D. labrax*, mais provoque une diminution significative de la croissance accompagnée d'une modification de la forme des *sagittae*, cet effet étant amplifié par l'augmentation des concentrations. Ces résultats indiquent que le zinc seul, à une concentration inférieure ou égale à 3,5 $mg.l^{-1}$ qui représente une concentration supérieure aux concentrations environnementales même fortement anthropisées comme celles des ports de plaisance, n'a pas d'effet sur la mortalité, le développement, ainsi que sur la forme et le niveau d'asymétrie des *sagittae* pour *D. labrax.*

IV.C - Bilan sur nos méthodes de quantification des effets

Dans nos expériences *in aquaria*, l'analyse de l'AF des *sagittae* semble peu refléter des différences de *fitness* sur des juvéniles de *D. labrax*. Ces résultats pourraient être expliqués en relation avec le coût fonctionnel de l'asymétrie des *sagittae* (Bergstrom & Reimchen, 2005), vu le rôle cognitif important des otolithes (Hilbig *et al.*, 2002; Popper *et al.*, 2005; Lemberget & McCormick, 2009).

D'autre part, un élément particulier a pu masquer un potentiel effet des traitements sur l'AF des otolithes. En effet, jusqu'à 10% des individus de certains lots ont dû être écartés lors de la dissection car présentant des anomalies de cristallisation des otolithes (Gauldie, 1993;

Falini *et al.*, 2005), aboutissant à des déformations de ces objets. Des formes moins marquées de ces anomalies chez certains individus, ne ressortant pas comme aberrantes, ont pu être prises en compte au cours des analyses. En effet, les individus présentant ces faibles anomalies ont potentiellement mieux survécu dans les bacs témoins aux conditions stressantes minimales que dans les bacs exposés à un contaminant. Les otolithes des poissons décédés en cours d'expérimentation n'étant pas pris en compte, la survie d'individus témoins à otolithes faiblement anormaux a pu entraîner une hausse, biaisée, de l'AF au niveau des témoins, rendant leur niveau d'AF peu différent de celui des individus exposés. Ces défauts se retrouvant chez les animaux à leur arrivée au laboratoire, l'origine aquacole de nos poissons semble donc en cause. Deux origines semblent possibles pour ces anomalies. La première tient compte des conditions d'élevage. Ces dernières ayant pour objectif la production d'individus conformes aux attentes des clients et consommateurs, une sélection rigoureuse des géniteurs et des lignées existe. De fait, une augmentation de l'homozygotie peut être attendue chez ces individus, conduisant à certaines anomalies de développement. Cette hypothèse semble toutefois peu probable, le lien entre homozygotie et AF ayant été montré comme faible (Vøllestad *et al.*, 1999; Vøllestad & Hindar, 2001). La seconde origine possible est associée au fait que des individus qui n'auraient pas survécu dans un environnement naturel sont amenés à survire et se développer en aquaculture. Cela explique l'absence apparente de ce pourcentage d'otolithes anormaux au niveau de populations sauvages, d'après nos collègues et nos observations sur des juvéniles d'oblades. En conclusion, quelques études ont suggéré l'asymétrie fluctuante comme indicateur de stress potentiel pour les poissons (Somarakis *et al.*, 1997b; Anken *et al.*, 1998; Grønkjær & Sand, 2003; Almeida *et al.*, 2008; Sopinka *et al.*, 2012), alors que d'autres n'ont montré aucun effet du stress sur l'AF (Vøllestad & Hindar, 2001; Øxnevad *et al.*, 2002; Kruuk *et al.*, 2003) ce qui est une tendance similaire à celle de nos résultats *in aquaria*.

En ce qui concerne les analyses de forme des otolithes de poissons, la majorité des données proviennent d'études réalisées sur des adultes et *in situ* (Morrow, 1979; Gaemers, 1983; Campana & Casselman, 1993; Begg *et al.*, 2001; García-Gómez *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 2002; Galley *et al.*, 2006; Tracey *et al.*, 2006), contrairement à notre étude sur juvéniles *in aquaria*. Il a été montré que la forme des otolithes est spécifique à une espèce (Morrow, 1979; L'Abée-Lund, 1988) et change avec l'âge des individus (Javor *et al.*, 2011), leur croissance (Secor &

Dean, 1989; Campana & Casselman, 1993), ou encore des modifications environnementales du milieu où ils évoluent (Secor & Dean, 1989; Campana & Casselman, 1993; Anken *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2002; Galley *et al.*, 2006). Cette dernière observation nous a conduits à utiliser les analyses de formes des *sagittae* pour tenter de mettre en évidence un effet de contaminants. De notre étude il résulte que l'utilisation des comparaisons de formes des *sagittae* via l'analyse elliptique de Fourier, que ce soit à l'aide une ACP suivie d'une analyse des variances ou à l'aide une CAP, est aussi pertinente pour mesurer l'impact d'un stress chimique sur des juvéniles de *D. labrax*. En effet, des différences morphologiques significatives entre conditions témoin et contaminée ont pu être mises en évidence. De plus, une augmentation de ces modifications de forme a été constatée avec l'augmentation de la concentration de zinc, en accord avec les résultats de mortalité et de croissance obtenus en parallèle.

Chapitre 3 - *In situ*

I - Introduction

En tant qu'interface entre milieux marin et terrestre, les côtes présentent une large variété d'écosystèmes (Ducrotoy & Yanagi, 2008). En Méditerranée nord-occidentale, l'exemple de la Côte d'Azur en est d'ailleurs une bonne illustration. Il est en effet possible de rencontrer en longeant la côte une succession de paysages variés. La variété de fonds en est un bon exemple, allant de nus à substrats meubles tel le sable ou les galets jusqu'à de denses forêts. Le relief lui-même favorise cette diversité d'environnement par la présence, par exemple, de falaises et cours d'eau qui interrompent la continuité du trait de côte. L'être humain aussi, en tant qu'espèce architecte, participe à la diversité de ces environnements en y bâtissant des ports, digues et autres jetées… Il résulte de tous ces éléments une juxtaposition de multiples environnements séparés permettant aux écosystèmes côtiers de fournir une grande diversité de services écosystémiques, comme par exemple un rôle de nourricerie de poissons (Cheminée, 2012; Cheminée *et al.*, 2013).

En plus de son importance écologique, cette interface entre terre et mer présente une forte attraction pour l'être humain et ses activités. Dans ce contexte, les côtes sont sujettes à d'intenses modifications centrées autour des besoins des populations, comme le logement (Thia-eng & Ross, 1998), l'industrie (Hildering *et al.*, 2009; Tiquio *et al.*, 2017), le commerce et le tourisme (Petrosillo *et al.*, 2009). L'environnement côtier peut donc être impacté à la fois par les modification physiques du littoral (jetées, digues…), par des contaminations biologiques (eaux de ballaste, débordement de sites d'épuration…) ou chimiques (vidanges, antifouling…) ponctuelles ou chroniques (Mestres *et al.*, 2010). En conséquence, le suivi des impacts anthropiques sur les environnements côtiers, à l'aide d'indicateurs sensibles et précoces, est une nécessité.

Ce chapitre portera donc sur la mise au point d'un tel indicateur basé sur l'étude des otolithes en testant sur *Oblada melanura* deux approches différentes : la quantification de l'asymétrie fluctuante des *sagittae* et la mesure de la variation de la forme de cet otolithe. Les objectifs de ce travail sont la comparaison des données *in aquaria* aux données de terrain et la caractérisation et validation d'un indicateur de stress *in situ*. Pour cela, nous présenterons en particulier l'étude de l'influence du temps de résidence sur un site, c'est-à-dire la durée séparant l'arrivé des individus sur le site du moment de leur prélèvement, et l'étude de l'influence du type d'environnement. En effet, notre hypothèse est qu'une augmentation de

l’asymétrie fluctuante ainsi qu’une amplification de la variation de forme seront obtenues d’une part avec l’augmentation du temps de résidence correspondant à une plus longue durée d’exposition aux conditions environnementales du site, et d’autre part entre des environnements présentant des niveaux croissants d’anthropisation.

II - Méthodes

Cette partie ne décrit que les méthodes spécifiques à l'étude *in situ*, les techniques de dissection, prise de vues et analyses des différences potentielles entre échantillons étant identiques à celles utilisées pour les expériences *in aquaria*.

II.A - Matériel vivant

A l'origine l'objectif était de travailler sur le même modèle que celui employé *in aquaria*, c'est-à-dire *Dicentrarchus labrax*. Son cycle de reproduction est bien connu et selon les données historiques il serait possible, dans la zone de Marseille, de rencontrer juvéniles entre mai et juin (Barnabé, 1980).

Deux éléments nous ont fait remettre en question l'utilisation de *Dicentrarchus labrax* comme espèce prélevée *in situ*. Le premier est son caractère ubiquiste associé au comportement de prédateur : bien que pouvant présenter un intérêt car indiquant une présence possible dans des environnements variés, il sous-entend aussi la possibilité de déplacements considérables. Cela empêche l'estimation du temps de résidence des individus prélevés à un endroit donné. Pour notre travail une espèce sédentaire est plus intéressante. De plus, ces individus sont relativement rares dans la zone géographique d'intérêt comparativement à d'autres comme le genre *Diplodus* ou encore *Oblada melanura*. Nous avons toutefois effectué plusieurs tentatives de prélèvement au cours du mois de juin 2013 (période théoriquement optimale) et nous n'avons pas rencontré un seul juvénile de cette espèce, ce qui nous a poussés à rechercher une autre espèce plus adaptée à nos travaux.

Des membres du Laboratoire ont évoqué un genre intéressant : *Diplodus*, auquel nous nous sommes intéressés, plus particulièrement *Diplodus sargus* et *Diplodus annularis*. D'après le retour d'expérience de nos collègues, ce genre est commun dans la zone d'étude et se rencontre dans des sites faciles d'accès avec palmes, masque et tuba, comme des petits fonds rocheux et des plages. De plus, sa période de reproduction s'étale sur quatre mois (juin à septembre selon l'espèce). Toutefois ces poissons se sont révélés peu nombreux, avec une forte variation de population interannuelle, ce qui a posé un problème à la fois technique (N faible) et éthique (impact de la capture sur l'espèce dans la zone).

Suite aux premières séances d'échantillonnage et à d'autres discussions entre collègues, nous avons pu établir qu'une autre espèce était mieux adaptée à nos besoins : *Oblada melanura* ou oblade.

Classe : Actinopteri
Ordre : Perciformes
Famille : Sparidae
Genre : *Oblada* (Cuvier, 1829)
Espèce : *Oblada melanura* (Linnaeus, 1758)

Oblada melanura (Figure 3-1), est un poisson purement marin dont l'aire de répartition s'étend de la Méditerranée à l'Afrique de l'Ouest.



Figure 3-1 : Juvéniles d'oblades (*Oblada melanura*) dans une boîte de Pétri de 10 cm de diamètre.

Ce poisson n'est pas menacé par l'activité humaine en Méditerranée occidentale, il est d'ailleurs classé "*Least Concern*"[15] au niveau de la liste rouge des espèces menacées par l'IUCN (*International Union for Conservation of Nature and Natural Resources*) (Russell *et al.*, 2009). De robe grise argentée qui porte des lignes longitudinales pouvant être marquées sur les flancs, il possède un corps oblong, un œil mesurant environ la moitié de la hauteur de la tête et une bouche oblique et orientée vers le haut. *Oblada melanura* est facilement identifiable par la tache noire en forme de selle auréolée de blanc située au niveau de l'extrémité du pédoncule caudal (Wacquant & Lamare, 2016).

Adulte, c'est un poisson sédentaire et grégaire appréciant la proximité du fond (Bauchot & Hureau, 1990). Les jeunes adultes (~60 mm) sont plutôt solitaires. De nuit ils présentent un comportement démersal avec une préférence pour un fond composé de sable grossier présentant de nombreux petits rochers. Au stade juvénile et au moment du recrutement, ce poisson est retrouvé au niveau du rivage où il forme des bancs pouvant atteindre plusieurs centaines d'individus. Les plus jeunes individus (7-15 mm début juin) se rencontrent à faible profondeur, entre la surface et environ 1 m, à proximité d'anfractuosités de la paroi rocheuse où ils séjournent. En grandissant (17-26 mm fin juin, début juillet), ils vont avoir tendance à

[15] Préoccupation mineure : le plus faible niveau pour les espèces évaluées.

s'étendre aussi à des zones plus profondes (jusque 3-5 m) tout en se maintenant à proximité d'une paroi rocheuse présentant des anfractuosités où se réfugier en cas de menace.

L'oblade présente une reproduction estivale. Les individus adultes vont produire des œufs qui seront transportés par les courants (Figure 3-2). La phase pélagique, d'une durée de 14 à 18 jours (Raventós & Macpherson, 2001; Macpherson & Raventós, 2006), se termine par l'arrivée sur la côte de juvéniles de 7 mm environ (observation personnelle).

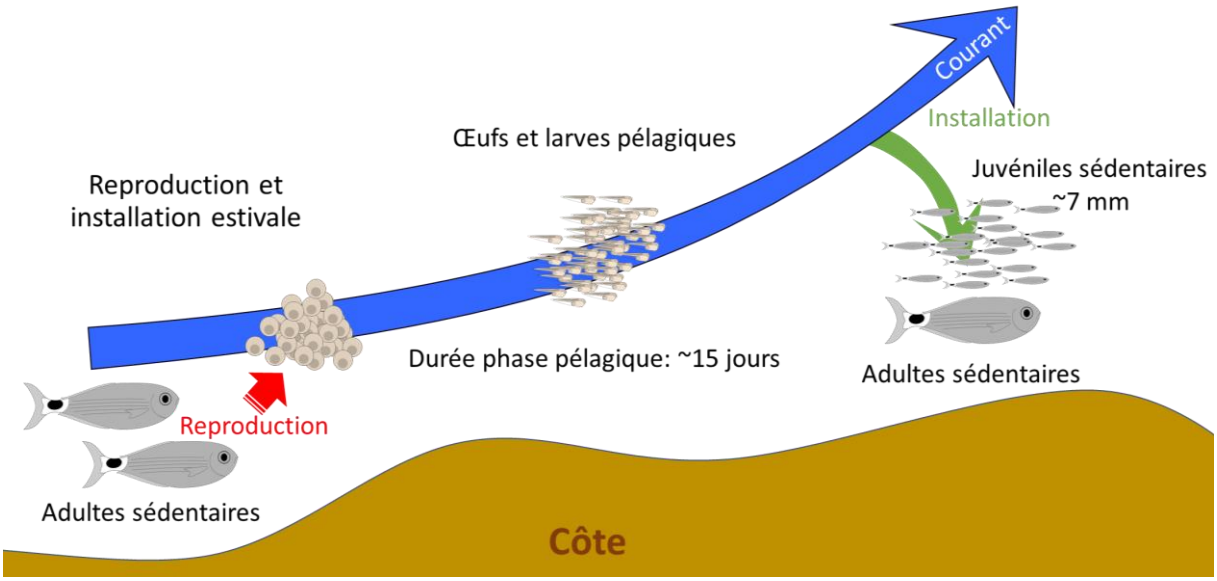


Figure 3-2 : *Oblada melanura*, reproduction et dispersion.

Une étude récente (Calò *et al.*, 2016), basée sur l'utilisation de 11 marqueurs micro-satellites, n'a par ailleurs pas montré de différence entre populations d'oblades en Méditerranée occidentale à l'échelle locale (50 à 100 km).

II.B - Caractéristiques des stations d'échantillonnage

Une fois l'espèce d'intérêt identifiée s'est posé le choix des points d'échantillonnage pour répondre à la question sur la possible utilisation de l'asymétrie fluctuante ou de la forme des otolithes comme indicateur de stress chez le poisson. Nous avons considéré les activités anthropiques au sens large comme source de stress.

II.B.1 - Types de site d'intérêt

Nous avons choisi nos points de prélèvements comme devant être de 3 types différents, dans des zones géographiques d'échantillonnage qui devaient donc présenter des activités équivalentes à des niveaux relativement similaires.

Trois types d'environnements différents ont été retenus :

- des sites préservés de l'influence de ports et cours d'eau ainsi que de toute source de pollution identifiée,
- des sites présentant une arrivée d'un cours d'eau de faible dimension,
- des sites situés à proximité d'une sortie d'un port de plaisance de taille moyenne.

Ce choix a été effectué compte tenu des conditions existant au niveau de la Côte d'Azur. Trouver des sites fortement impactés par les activités anthropiques dans cette zone géographique s'est avéré relativement aisé. Les ports de plaisance de cette côte constituent des sources d'une grande variété de perturbations : chimiques (hydrocarbures, composés antifouling, détergents), biologiques (matières fécales), physiques (nuisances sonores). De plus les sorties de port de plaisance du littoral azuréen sont généralement constituées de digues faites d'un amoncellement de roches dont les nombreuses anfractuosités sont autant de sites de collecte faciles.

En revanche les sites à faible niveau d'impact anthropique sont plus rares. Les sites choisis ne subissant que peu d'activité humaine et remplissant les conditions de présence des post-larves et juvéniles d'*Oblada melanura* sont des plages peu fréquentées. De nombreux sites intéressants sont toutefois inaccessibles depuis la voie publique car situés à l'arrière de propriétés privées, particulièrement du côté de l'Esterel.

Enfin il convenait de trouver des sites présentant un niveau d'impact intermédiaire aux précédents, possédant une source d'impact définie et répétable au long du bord de mer azuréen. Les sites de rejet d'eau douce semblaient idéaux pour répondre à ces trois critères. En effet rivières et torrents reçoivent des eaux de ruissellement potentiellement contaminées et les convoient jusqu'aux zones de rejet en mer. Les cartes du littoral situent généralement ces sites sur des zones balnéaires présentant les caractéristiques propices à la présence d'*Oblada melanura*.

Le choix de ces types de sites, de niveaux d'impacts anthropiques croissants, permettait d'attendre un effet croissant du stress sur l'asymétrie ou la forme des otolithes, en allant des zones balnéaires aux zones proches des ports de plaisance.

II.B.2 - Zones géographiques d'intérêt

Afin d'obtenir une bonne représentativité du littoral azuréen, nous avons décidé de travailler sur trois zones partageant la côte entre Le Dramont et la frontière italienne. Procéder

à un échantillonnage à l'Ouest du Dramont n'était pas envisageable pour des raisons d'ordre logistique (temps de trajet : 2 heures) car en période estivale les conditions de température et de circulation pouvaient compromettre la conservation des échantillons jusqu'au laboratoire, malgré l'utilisation d'une glacière et de pains de glace.

Le découpage de cette portion de côte en trois parts similaires se présente comme suit :

- zone 1 : du Dramont à Cannes,
- zone 2 : de Cannes à Nice,
- zone 3 : de Nice à la frontière italienne.

Nous n'avions au moment du choix de ces zones aucun *a priori* concernant leur influence sur les otolithes.

II.B.3 - Les sites choisis

Ce découpage géographique visait à disposer d'un site de chaque type dans chacune des zones. Une première localisation a été effectuée sur cartes du littoral. La première sélection effectuée, le service Google Street View de Google Maps a permis de déterminer les points d'accès possibles pour les sites repérés. Enfin, au cours du premier trimestre de l'année 2013 une visite des sites retenus a eu lieu pour validation des conditions environnementales favorables aux jeunes oblades et de l'accès. Ainsi 16 sites ont été pré-sélectionnés : 4 en zone 1 (Le Dramont – Cannes), 5 en zone 2 (Cannes – Nice), 7 en zone 3 (Nice – frontière italienne).

Chacune des trois zones contient au moins :

- un site de type préservé (type A),
- un de type petit cours d'eau (type B),
- et un de type port de plaisance (type C).

La table ci-dessous (Table 3-1) reprend les informations correspondant à chacun des 16 sites.

Table 3-1 : Récapitulatif des coordonnées GPS des stations utilisables dans le cadre d'une étude sur l'influence de l'environnement immédiat sur le développement de post-larves et juvéniles d'*Oblada melanura*.
La zone 1 correspond à la portion de littoral comprise entre Le Dramont et Cannes ; la 2 entre Canne et Nice ; la 3 entre Nice et la frontière italienne. Le type A correspond aux sites "préservé" ; le B aux sites "petit cours d'eau", et le C aux sites "port de plaisance".

Zone	Type	Nom	°N	‘N	"N	°E	‘E	"E
1	A	Calanque d'Aurelle	43	27	44	6	55	18
	C	Port de la Figueirette	43	28	58	6	55	51
	C	Château de la Napoule	43	31	24	6	56	35
	B	La Bocca, Le Béal	43	32	11	6	57	14
2	A	Cap d'Antibes	43	32	57	7	7	2
	B	Antibes, Pointe de l'Îlette - effluent	43	34	31	7	7	28
	B	Antibes, Pointe de l'Îlette - plage	43	34	29	7	7	30
	C	Port de la Salis	43	34	11	7	7	56
	C	Marina baie des anges	43	37	59	7	8	16
3	C	Villefranche sur mer, Darse	43	41	40	7	18	27
	B	Beaulieu, Baie des Fourmis	43	42	6	7	19	46
	C	Beaulieu, port de Beaulieu	43	42	41	7	20	15
	A	Cap Ferra, Anse des Fossettes	43	41	10	7	20	19
	A	Cap Ferra, Paloma Beach	43	41	10	7	20	31
	B	Eze Silva Maris	43	43	2	7	21	3
	A	Eze Plage	43	43	21	7	21	37

Pour notre étude, sur les seize sites pré-sélectionnés, trois sites par zone (un de chaque type) ont été finalement retenus pour la réalisation de prélèvements annuels sur trois ans :

- zone 1 : la Calanque d'Aurelle (1A), La Bocca, Le Béal (1B), le Port de la Figueirette (1C),

- zone 2 : le Cap d'Antibes (2A), Antibes, la Pointe de l'Îlette, effluent (2B), Marina Baie des Anges (2C),

- zone 3 : Eze Plage (3A), Eze Silva Maris (3B), le Port de Beaulieu (3C).

Le codage des sites correspond donc au numéro de la zone de prélèvement (1, 2 ou 3) associé au type de site (A, B ou C). Les emplacements des sites, ou stations, sont identifiés sur la carte de la Figure 3-3.

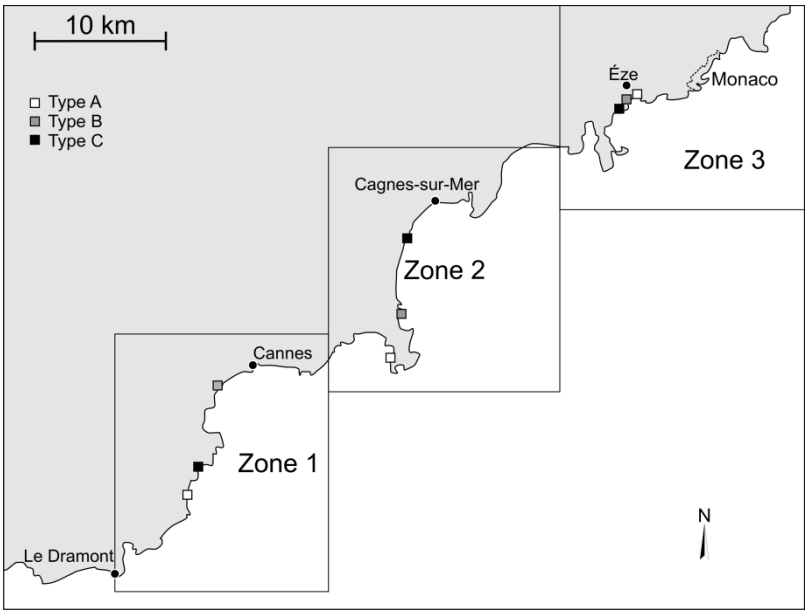


Figure 3-3 : Carte récapitulative des stations d'intérêt sélectionnées.
Sites retenus dans le cadre d'une étude sur l'influence de l'environnement immédiat sur le développement de post-larves et juvéniles d'*Oblada melanura*.
Le type A correspond aux stations "préservé" ; le B aux stations "petit cours d'eau", et le C aux stations "port de plaisance".

II.C - Techniques de prélèvement des oblades

Il est à noter que dans chaque site le prélèvement d'une cinquantaine d'individus, à ce stade de développement où la mortalité est élevée, limite l'impact de ce travail sur cette espèce.

Le prélèvement de juvéniles d'*Oblada melanura* se fait en juin-juillet, au niveau de zones présentant peu de profondeur (50 cm à 1 m), avec un enrochement partiellement immergé et de nombreuses anfractuosités.

Lors de l'optimisation des techniques d'échantillonnage, plusieurs techniques ont été employées, allant de certaines très simples, à d'autres plus élaborées bien que toujours relativement simples, car nécessitant de l'expérience pour être pratiquées efficacement. Toutes ces méthodes de prélèvement sont ici abordées du point de vue du matériel nécessaire, des techniques et de leur efficacité. La première méthode est dite "passive", elle est suivie de méthodes dites "actives".

II.C.1 - Prélèvements passifs

Ces prélèvements ont eu lieu au plus tôt une demi-heure après le coucher du soleil, sur le principe des light-traps. Cette technique peu onéreuse est censée permettre la capture d'individus attirés par phototropisme.

II.C.1.a - Matériel

Le matériel utilisé lors de ces essais de prélèvements nocturnes est composé de :

- 1 cadre carré de 60 cm de côté, fait de tubes PVC de diamètre 25 mm percés de 6 paires de trous par tube pour permettre un bon remplissage lors de sa submersion, et lesté à l'aide de gravillons ; ce cadre est équipé d'un filet à mailles très fines et relié à la berge par un câble en nylon fixé aux 4 coins du cadre,
- 1 cyalume vert,
- 1 récipient destiné au stockage des individus capturés,
- 1 glacière et des blocs froids pour le transport.

II.C.1.b - Technique

Le cade est submergé à une profondeur d'une cinquantaine de centimètres, le câble le reliant à la berge positionnée le plus verticalement possible afin de permettre une remontée la plus rapide. Le cyalume craqué est fixé au centre du filet à l'aide d'un fil de nylon. Après immersion le cadre est laissé en place sans intervention pendant un minimum de 15 minutes, les opérations à proximité devant être aussi limitées que possible. Au bout des 15 minutes le cadre est brusquement remonté pour piéger les individus qui y ont pénétré.

II.C.1.c - Efficacité

Cette technique est très peu efficace et non sélective. Elle a été très vite abandonnée au profit des prélèvements actifs.

II.C.2 - Prélèvements actifs

II.C.2.a - Matériel

- 1 lampe de plongée,
- 2 épuisettes à mailles fines,
- palmes, masque et tuba,
- 1 récipient hermétique de 500 ml,
- 1 solution d'huile essentielle de giroflier (eugénol) à 5% v/v, soit 53 $g.l^{-1}$, dans de l'éthanol,
- 1 glacière et des blocs froids pour le transport.

II.C.2.b - Technique

La préparation commence par celle du récipient d'euthanasie et de stockage : il est rempli à moitié d'eau de mer (250 ml), dans laquelle sont versés 10 ml de la solution de giroflier à 5%

pour obtenir un mélange à 2,038 g.l^{-1}. Cette solution est environ 50 fois plus concentrée que celle utilisé pour l'anesthésie (40 mg.l^{-1}) d'autres *Sparidae* adultes comme *Sparus aurata* et *Dentex dentex* (García-Gómez *et al.*, 2002; Ross & Ross, 2008b) et convient donc pour l'euthanasie des individus prélevés (Neiffer & Stamper, 2009).

Prélèvements nocturnes

Ce type de prélèvement est généralement le plus efficace du fait de la faible activité nocturne de l'espèce visée qui facilite le prélèvement.

Comme tous prélèvements, ils s'effectuent par équipe de deux au minimum. L'un des équipiers reste sur la berge avec un téléphone portable pour assurer la sécurité du "préleveur". Pour des raisons de sécurité, le matériel comme les lampes de plongée doit être doublé et des batteries de rechange disponibles.

Le préleveur se met à l'eau, s'oriente face à la paroi rocheuse et balaie la paroi avec la lampe de plongée pour identifier un banc. Une fois le banc repéré, il prend les deux épuisettes et tente d'en encadrer le banc. Il procède à la capture en effectuant un mouvement en deux temps : il positionne d'abord l'une des épuisettes sous le banc, ouverture vers la surface de l'eau, et l'autre perpendiculairement, avec l'ouverture vers le banc. Le préleveur remonte les deux épuisettes pour les sortir de l'eau en maintenant cette position. Il n'y a plus qu'à mettre les individus récoltés dans le récipient d'euthanasie et de stockage. Ce type de prélèvement peut être facilité si la personne sur la berge récupère la collecte pour la placer dans le récipient d'euthanasie et de stockage. Deux paires d'épuisettes permettent alors d'enchaîner les prélèvements.

Prélèvements au point du jour et diurnes

Comme pour les prélèvements nocturnes, la mise à l'eau s'effectue au niveau de plages présentant peu de profondeur (50 cm à 1 m), avec un enrochement partiellement immergé et de nombreuses anfractuosités. Il a pu cependant arriver à plusieurs reprises de rencontrer des individus jusqu'à 3 m de profondeur, généralement plus grands que ceux rencontrés dans le premier mètre. La méthode de capture est proche de celle employée de nuit mais nécessite plus de dextérité, les individus étant plus vifs que de nuit.

Il faut identifier un banc situé à proximité de la paroi rocheuse (généralement proche d'une anfractuosité). Deux méthodes sont alors envisageables, selon la taille du banc. Si le banc est relativement grand, c'est-à-dire comptant plus d'une cinquantaine d'individus, une approche

vive à une épuisette peut être très efficace : l'épuisette doucement placée sous le banc est maniée pour dessiner un rapide mouvement en "8" au travers du banc. Cette méthode implique de déplacer suffisamment rapidement l'épuisette pour empêcher la sortie des individus capturés. Pour des bancs de plus petite taille, une approche plus délicate comme la technique présentée pour les prélèvements nocturnes est satisfaisante.

II.C.2.c - Efficacité

L'efficacité de ces techniques actives de prélèvement varie en fonction de la température de l'eau à 20 cm de la surface, est mesurable d'après la durée de la collecte de l'échantillon et est satisfaisante (Figure 3-4).

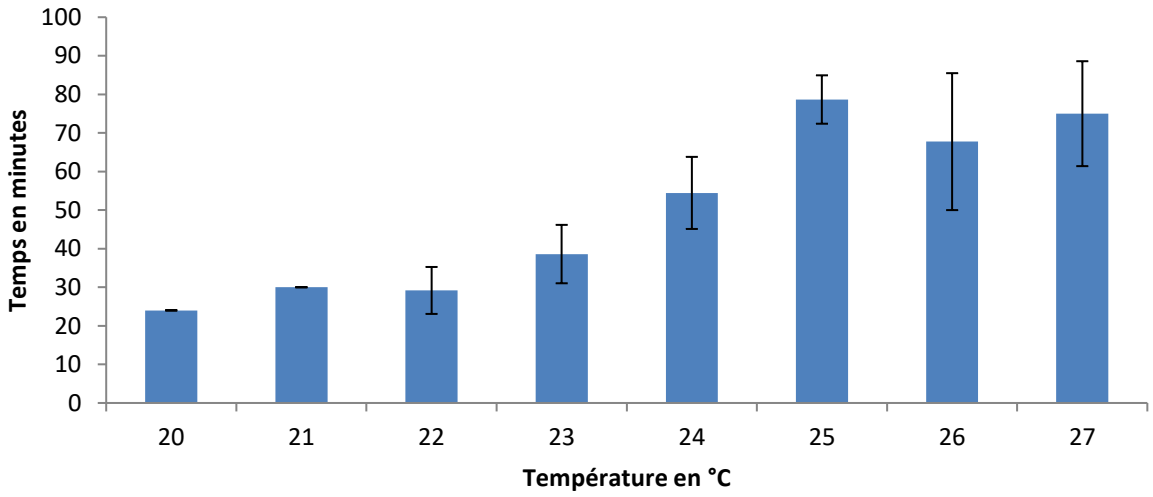


Figure 3-4: *Oblada melanura*, données de prélèvement lors des pêches effectuées en 2013, 2014 et 2015. Les juvéniles ont été échantillonnés entre juin et juillet selon leur période d'arrivée. Durée de prélèvement en minutes (moyenne ± SE) en fonction de la température de l'eau en surface (20 cm) au moment du prélèvement.

La température de l'eau en surface variant au cours de la journée (Figure 3-4), il est plus judicieux d'effectuer les prélèvements en matinée avant 10 heures ou le soir quand la température de l'eau est plus faible.

II.C.3 - Prélèvements d'eau

Afin de déterminer l'environnement chimique et plus particulièrement métallique des oblades, un échantillon d'eau a aussi été systématiquement récolté simultanément aux prélèvements d'oblades, au niveau de chaque point de prélèvement.

Les échantillons ont été mesurés successivement par deux laboratoires, le premier laboratoire s'étant révélé peu fiable et ayant refusé de communiquer sur les traitements auxquels ils avaient soumis les échantillons. Les données présentées à l'Annexe VII : Analyses

des échantillons d'eau prélevés *in situ* (données du deuxième laboratoire) sont donc fournies à titre indicatif et sont à considérer du point de vue des concentrations relatives.

II.D - Traitement et analyses des échantillons

Contrairement aux échantillons *in aquaria*, les échantillons *in situ* impliquent un transport assez long, c'est-à-dire au minimum 45 minutes. De nouvelles stratégies de conditionnement sur le terrain ont donc dû être développées pour permettre l'arrivée au laboratoire d'échantillons de bonne qualité.

Hormis le conditionnement et le stockage, les méthodes de traitement et d'analyses des échantillons sont similaires à celles présentées dans la partie Méthodes du Chapitre 2 -.

II.D.1 - Conditionnement sur le terrain

Lors des premiers prélèvements, les individus étaient transportés dans des sacs de congélation remplis d'eau au moment de la pêche. Bien que pratique, cette technique rendait difficile le comptage des individus au moment du prélèvement, et leur état à l'arrivée au laboratoire n'était parfois pas totalement satisfaisant, malgré l'utilisation d'une boîte isotherme et d'accumulateurs de froid. Deux mesures ont donc été mises en œuvre :

- tout d'abord l'utilisation d'une solution d'huile essentielle de giroflier qui présente ici deux intérêts majeurs : rigidifier les poissons- (donc faciliter leur manipulation en laboratoire) et mieux préserver l'échantillon.
- les sacs de congélation ont été remplacés par des bocaux en verre lors de l'échantillonnage. Leur utilisation, bien que plus fastidieuse, permet d'effectuer un comptage direct des individus lors du prélèvement. Ce changement a permis d'optimiser les prélèvements en validant le nombre d'individus récoltés, ce qui élimine le risque de départ avec un échantillon en quantité insuffisante en cas de faible densité de poissons, et ce qui minimise la quantité d'individus prélevés en cas de forte densité.

II.D.2 - Stockage au laboratoire

Bien que les conditions de stockage à -20°C fussent identiques à celles employées pour les échantillons *in aquaria*, la méthode de conditionnement décrite dans le chapitre 2 ne pouvait pas être employée ici, dans la mesure où les individus étaient de dimensions bien inférieures. Pour ces individus de petite taille, plus fragiles, un support rigide et solide est préférable. L'utilisation de boîtes de Pétri en plastique de 10 cm de diamètre répond parfaitement à ces

contraintes et permet une bonne organisation du rangement des individus, avec un stockage à haute densité sans risque d'accolement des poissons (Figure 3-5). Ce type de contenant sert aussi de support pour y écrire les informations concernant l'échantillon.



Figure 3-5 : Echantillon prélevé *in situ* préparé pour le stockage à -20 °C.
Jeunes oblades prélevées le 23 juin 2014 au niveau de la station Eze Plage et réparties sur le fond d'une boîte de Petri de 10 cm en matière plastique. La boîte est maintenue fermée à l'aide de ruban adhésif. L'étiquette en papier identifiant la station de prélèvement était placée au fond du bocal lors du prélèvement.

III - Expérimentations

L'ensemble des tables de résultats est disponible dans l'Annexe VI.

Toutes ces expérimentations ont été réalisées sur otolithes de juvéniles d'*Oblada melanura* (Figure 3-6).

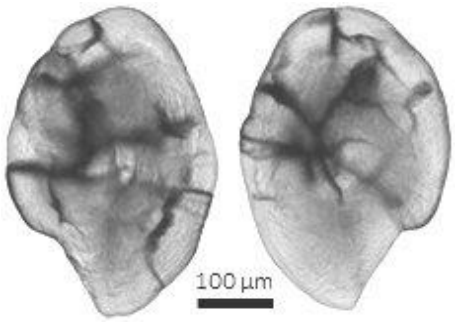


Figure 3-6 : Photographie d'une paire de *sagittae* d'un juvénile d'*Oblada melanura*.

III.A - Échantillonnage

Les individus utilisés pour ce travail ont été prélevés au cours des étés 2013, 2014 et 2015. Les dates de prélèvement ont varié en fonction de l'arrivée des premières *O. melanura* au niveau de la station 3A "Eze Plage". Au total, 1969 post-larves et juvéniles ont été prélevés au cours de ces campagnes.

Table 3-2 : *Oblada melanura*, dates d'échantillonnage *in situ*.
Chaque année, le premier prélèvement a été effectué 7 jours après la détection du premier individu au niveau de la station "Eze plage". En vert : date de prélèvement.

	Juin																Juillet						
	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	1	2	3	4	5	6	7
2013																							
2014																							
2015																							

	Juillet																						
	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
2013																							
2014																							
2015																							

Sur les 1969 post-larves et juvéniles, 1752 ont pu être utilisés. Parmi eux 634 ont été analysés dans le cadre de l'étude de l'influence de la durée de résidence, c'est-à-dire le temps écoulé depuis l'arrivée des individus sur le site jusqu'à leur prélèvement, durant le premier mois d'installation des poissons. 1344 ont été analysés dans le cadre de l'étude de l'asymétrie fluctuante pour une comparaison des sites selon leur type, leur zone et l'année. Enfin, 981 l'ont été dans le cadre de l'étude de l'influence de l'environnement sur la forme des otolithes. Les effectifs sont présentés dans la Table 3-3. En 2015 aucun poisson n'a été rencontré au niveau du site 2C ("Marina Baie des Ange") malgré leur présence sur l'ensemble des autres sites.

Table 3-3 : *O. melanura*, effectif des échantillons utilisés.
1, 2, 3 : zones 1, 2, 3 ; A, B, C : types A, B, C.

		A	B	C	Date de prélèvement
2013	**1**	26		36	07/22
			28		07/26
	2		43	29	07/17
		27			07/26
	3	49			07/10
		55	33	29	07/24
		43			07/30
2014	**1**	72		93	06/24
			90		06/30
	2	63	66		06/30
				32	07/01
	3	89	60	60	06/23
		64		68	07/03
2015	**1**	55		67	06/22
			66		06/23
	2	56			06/23
			55		06/29
	3	43	49		06/15
		74		62	06/25
		35		35	06/30

Du fait des conditions environnementales variant naturellement entre les années, des différences sont *a priori* attendues au niveau des otolithes entre échantillons des différentes années.

III.B - Asymétrie fluctuante

III.B.1 - Influence de la durée de résidence sur un site

Lors des 3 années de prélèvements, il n'était techniquement pas possible de prélever les 9 sites éloignés le même jour. De plus, les prélèvements dépendaient aussi des conditions météorologiques qui devaient être favorables. Cela nous a conduit à avoir des écarts entre les dates de prélèvements qui pouvaient être de plusieurs jours. Il y avait alors un risque de ne pas pouvoir effectuer une comparaison correcte entre échantillons de sites différents ce qui est le but de notre étude *in situ*. Nous avons donc effectué, en parallèle des prélèvements effectués sur l'ensemble des 9 sites en 2013, 2014 et 2015, des prélèvements répétés sur les sites 3A et 3C, quand cela été possible, une seconde fois et une troisième fois selon l'année.

Le but était donc de savoir s'il existe une évolution de l'asymétrie avec la durée de résidence des individus en un site, une durée de résidence plus importante signifiant une exposition plus longue aux conditions environnementales du site.

Ces échantillonnages successifs représentent un total de 634 individus sur les 3 années (Table 3-4) :

Table 3-4 : *Oblada melanura*, individus prélevés utilisés pour l'étude de l'influence de la durée de résidence sur un site.

Station	Année	Mois	Jour	Individus
3A	2013	07	10	49
		07	24	55
		07	30	43
	2014	06	23	89
		07	3	64
	2015	06	25	74
		06	30	35
3C	2014	06	23	60
		07	3	68
	2015	06	25	62
		06	30	35

III.B.1.a - En 2013

Morphologie des individus

La longueur totale ne sera pas utilisée dans le cadre des études *in situ* du fait de la fragilité des individus au moment de l'échantillonnage qui peut conduire à des dommages de la nageoire caudale. De plus, l'indice K ne sera pas utilisé ici du fait du prélèvement d'individus en période de croissance et dont l'âge est inconnu et vraisemblablement variable en fonction des individus.

Pour rappel, durant l'année 2013 seule la station 3A a été échantillonnée, 3 fois. Les prélèvements 1 et 2 étaient séparés par 14 jours, alors que 6 jours séparaient les prélèvements 2 et 3.

Si nous observons les valeurs moyennes de longueur standard et de poids, nous notons une augmentation avec le temps passé après le premier prélèvement (Figure 3-7).

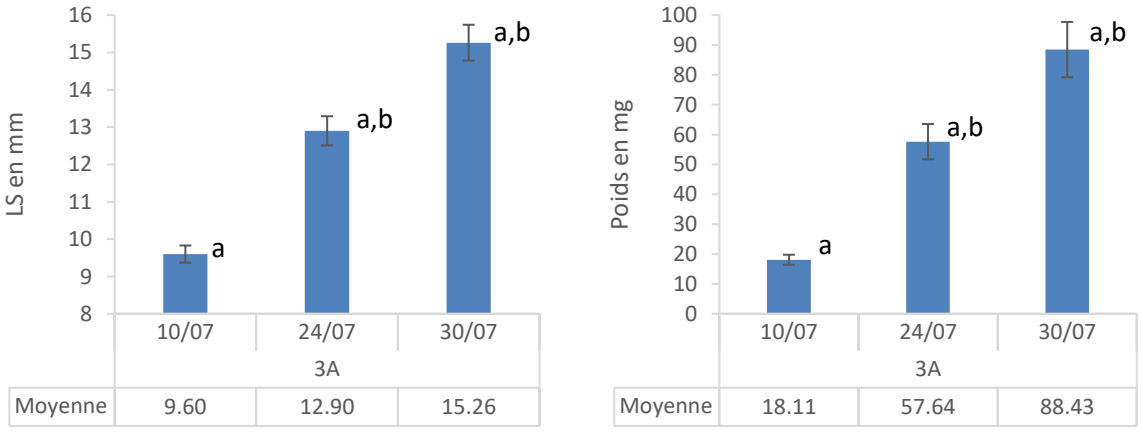


Figure 3-7 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, variables morphologiques par prélèvement en 2013.
L'histogramme représente la valeur moyenne de la série ± SE. Les différences significatives sont indiquées par des lettres.

Une ANOVA à un facteur (prélèvement) a été utilisée afin de vérifier l'existence, ou l'inexistence, d'une différence significative entre les différents prélèvements pour ces indices morphologiques. Ce test nous permet de confirmer l'existence d'au moins une différence très

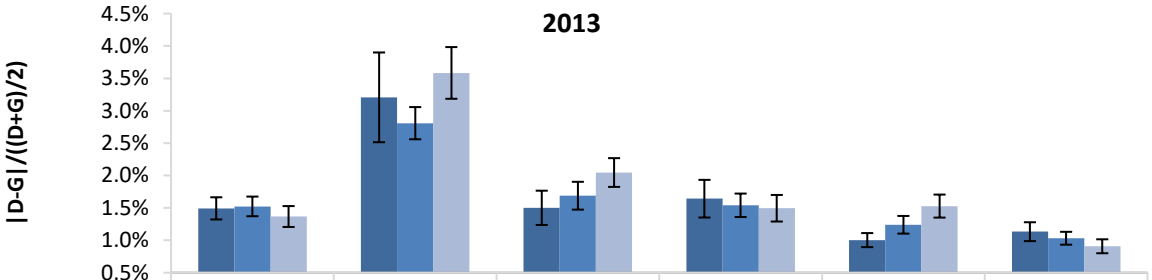
significative entre les différents prélèvements pour la LS ($F_{2,140}$=56,255, $p<10^{-4}$) et le poids ($F_{2,140}$=29,963, $p<10^{-4}$). Le test post-hoc de Scheffé donne, pour la LS et le poids, des différences très significatives ($p<10^{-4}$) entre le premier et les deux autres prélèvements, et des différences significatives pour la LS (p<0,001) et le poids (p<0,01) entre le second et le troisième prélèvement.

Analyse de l'asymétrie

La condition de normalité vérifiée à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov est respectée pour l'ensemble des 6 paramètres mesurés pour l'ensemble des groupes.

Nous avons observé les valeurs d'asymétrie absolue calculées à l'aide de l'indice FA2 du fait d'une corrélation entre asymétrie et taille des individus. La présence d'une AD a été testée et n'a rien révélé.

Concernant les valeurs d'asymétrie moyenne, nous constatons sur la Figure 3-8 que le périmètre présente des niveaux d'asymétrie plus élevés que les autres paramètres.



	Aire	Périmètre	Longueur	Largeur	Grand Ø	Petit Ø
3A 10-juil-13	1.493%	3.207%	1.502%	1.643%	1.004%	1.133%
3A 24-juil-13	1.524%	2.808%	1.689%	1.541%	1.240%	1.032%
3A 30-juil-13	1.367%	3.584%	2.047%	1.495%	1.528%	0.908%

Figure 3-8 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre et par date de prélèvement en 2013.
Nomenclature des séries : identifiant de station (3A) suivi de la date de prélèvement.
Barres d'erreur : erreur standard.

La comparaison des asymétries moyennes entre les différentes dates de prélèvement pour chacun des 6 paramètres mesurés a été effectuée à l'aide d'une ANOVA à un facteur (date). Aucune différence significative n'a été mise en évidence par ce test pour aucun des paramètres.

Interprétation de ces résultats

Sur les 20 jours séparant le premier du dernier prélèvement nous constatons une augmentation très significative de la taille et du poids au cours du temps, attendue à cet âge du fait de la croissance. Ces modifications morphologiques ne sont toutefois pas

accompagnées de modifications significatives du niveau d'AF. Le niveau d'AF des différents paramètres mesurés ne semble donc pas, chez les juvéniles d'oblades, modifié par le temps de résidence des individus sur le site.

III.B.1.b - En 2014

Morphologie des individus

Durant l'année 2014 les stations 3A et 3C ont été échantillonnées. 2 prélèvements ont été effectués pour chaque station, avec 10 jours d'écart.

Si nous observons les valeurs moyennes de taille et de poids, nous notons, comme en 2013, une augmentation avec le temps de résidence sur le site (Figure 3-9).

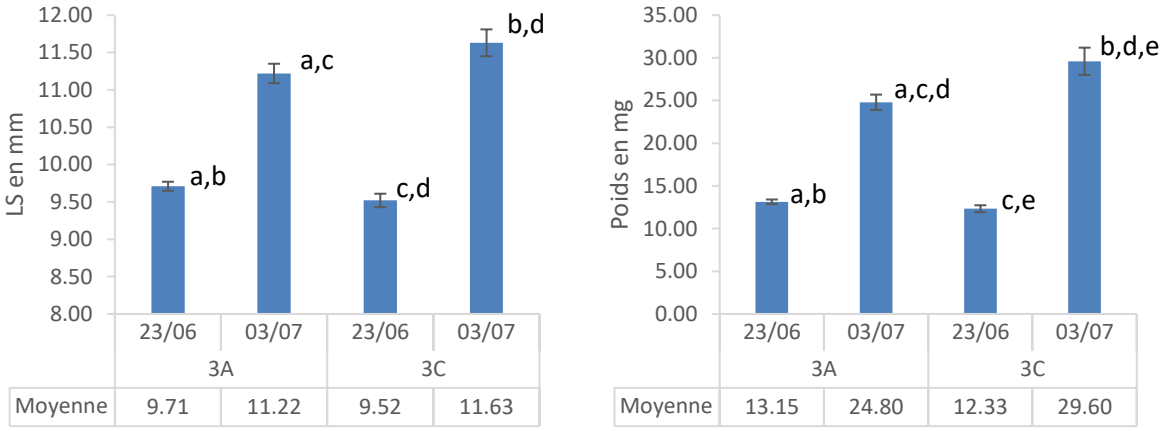


Figure 3-9 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, variables morphologiques par prélèvement en 2014.
L'histogramme représente la valeur moyenne de la série ± SE. Les différences significatives sont indiquées par des lettres.

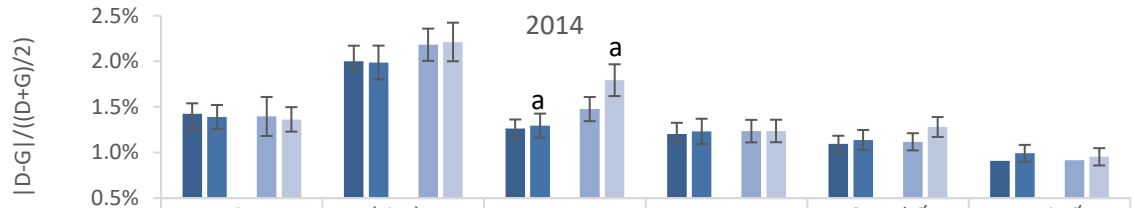
Une ANOVA à deux facteurs (station x prélèvement) a été utilisée afin de vérifier l'existence, ou l'inexistence, d'une différence significative entre les prélèvements et entre les stations pour ces indices morphologiques. Ce test nous permet de confirmer l'existence d'une différence très significative entre les différents prélèvements pour la LS ($F_{1,280}$=231,937 ; $p<10^{-4}$) et le poids ($F_{1,280}$=249,354 ; $p<10^{-4}$), d'une différence significative entre les poids pour les stations ($F_{1,280}$=4,754 ; p=0,030), et d'au moins une différence très significative pour le poids pour l'un des croisements (station x prélèvement) ($F_{1,280}$=9,412 ; p=0,002).

Le test post-hoc de Scheffé nous permet de préciser ces différences pour la LS et le poids. Pour la LS, aucune différence entre sites pour une même date n'existe, mais des différences très significatives ($p<10^{-4}$) existent entre tous les premiers et seconds prélèvements. Pour le poids, une différence significative existe entre sites pour le second prélèvement ($p = 4{,}8.10^{-3}$)

et des différences très significatives ($p<10^{-4}$) existent entre tous les premiers et seconds prélèvements.

Analyse de l'asymétrie

Après vérification des conditions d'applications, nous avons comparé les niveaux d'AF des différents paramètres pour les deux sites et les deux prélèvements successifs (Figure 3-10).



	Aire	Périmètre	Longueur	Largeur	Grand Ø	Petit Ø
3A 23-juin-14	1.423%	2.001%	1.264%	1.202%	1.093%	0.908%
3A 03-juil-14	1.390%	1.986%	1.295%	1.232%	1.138%	0.991%
3C 23-juin-14	1.395%	2.181%	1.476%	1.234%	1.117%	0.916%
3C 03-juil-14	1.363%	2.211%	1.793%	1.236%	1.280%	0.953%

Figure 3-10 : Oblada melanura, influence de la durée de résidence sur un site, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par date de prélèvement et par site en 2014.
Nomenclature des séries : identifiant de station (3A et 3C) suivi de la date de prélèvement.
Barres d'erreur : erreur standard. La différence significative est indiquée par une lettre.

La comparaison des asymétries moyennes entre les différentes dates de prélèvement pour chaque site, pour chacun des 6 paramètres mesurés, a été effectuée à l'aide d'une ANOVA à un facteur (date). Cette comparaison ne révèle aucune différence significative entre les prélèvements pour un même site. La comparaison des sites entre eux pour une même date, réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur (site), révèle une différence significative pour la longueur du rectangle entre les sites pour le second prélèvement ($F_{2,122}$=5,101 ; p= 0,026).

Interprétation de ces résultats

Comme en 2013, nous notons une augmentation statistiquement significative de la taille et du poids entre les prélèvements 1 et 2, quel que soit le site, variation attendue à cet âge du fait de la croissance. De plus le poids augmente entre la station A et la C pour le second prélèvement. Cette évolution semble indiquer une influence du site sur les individus.

L'AF ne semble pas suivre la même évolution car, hormis la longueur du rectangle entre les seconds prélèvements, nous n'avons pas détecté de différence significative entre les dates de prélèvements ni entre les sites. La longueur du rectangle étant la seule à varier, ce résultat reste soumis à caution. Comme précédemment, nous pouvons émettre l'hypothèse que le

niveau d'AF des différents paramètres mesurés ne semble donc pas, chez les juvéniles d'oblades, modifié par le temps de résidence des individus sur le site.

III.B.1.c - En 2015

Morphologie des individus

De nouveaux les stations 3A et 3C ont été échantillonnées. 2 prélèvements ont été effectués pour chaque station, avec 5 jours d'écart.

Si nous observons les valeurs moyennes de taille et de poids, nous notons, comme les années précédentes, une augmentation avec le temps (Figure 3-11).

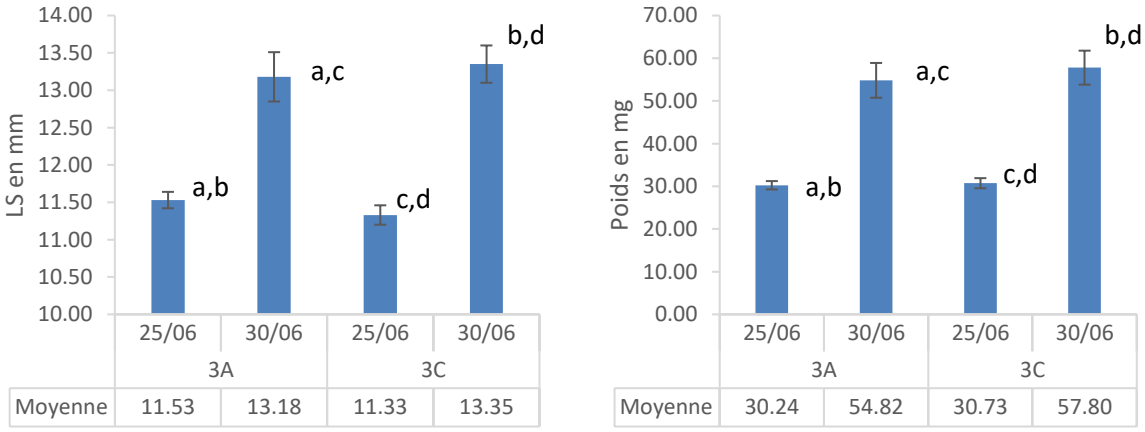


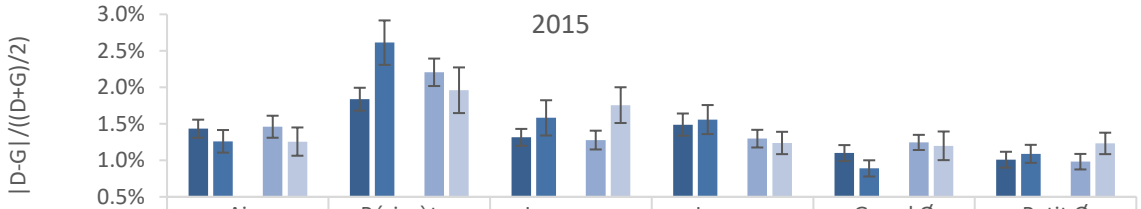
Figure 3-11 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, variables morphologiques par prélèvement et par site en 2015.
L'histogramme représente la valeur moyenne de la série ± SE. Les différences significatives sont indiquées par des lettres.

Comme en 2014, une ANOVA à deux facteurs (station x prélèvement) a été utilisée afin de vérifier l'existence, ou l'inexistence, d'une différence significative entre les dates de prélèvements et entre les stations pour ces indices morphologiques. Ce test nous permet de confirmer l'existence d'une différence très significative ($p<10^{-4}$) entre les différents prélèvements pour la LS ($F_{1,201}=108,05$; $p<10^{-4}$) et le poids ($F_{1,201}=125,739$; $p<10^{-4}$).

Le test post-hoc de Scheffé nous permet de préciser ces différences pour la LS et le poids Si aucune différence entre sites pour une même date n'existe, des différences très significatives ($p<10^{-4}$) existent entre tous les premiers et seconds prélèvements.

Analyse de l'asymétrie

Comme pour l'année précédente, après vérification des conditions d'applications, nous avons comparé les niveaux d'AF des différents paramètres entre les dates de prélèvements et entre les deux sites (Figure 3-12).



	Aire	Périmètre	Longueur	Largeur	Grand Ø	Petit Ø
3A 25-juin-15	1.433%	1.838%	1.315%	1.489%	1.100%	1.009%
3A 30-juin-15	1.261%	2.612%	1.582%	1.559%	0.890%	1.089%
3C 25-juin-15	1.460%	2.206%	1.278%	1.297%	1.245%	0.982%
3C 30-juin-15	1.257%	1.960%	1.756%	1.238%	1.199%	1.232%

Figure 3-12 : *Oblada melanura*, influence de la durée de résidence sur un site, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par date de prélèvement et par site en 2015.
Nomenclature des séries : identifiant de station (3A et 3C) suivi de la date de prélèvement.
Barres d'erreur : erreur standard.

La comparaison des asymétries moyennes entre les différentes dates de prélèvement et pour un site, pour chacun des 6 paramètres mesurés, a été effectuée à l'aide d'une ANOVA à un facteur (date). Cette comparaison n'a donnée aucune différence significative, sauf pour le périmètre pour la station 3A ($F_{1,107}$=6,257 ; p= 1,390.10^{-2}). La comparaison des sites entre eux pour une même date, réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur (site), n'a révélé aucune différence entre sites pour aucun des paramètres mesurés.

Interprétation de ces résultats

Les résultats de 2015 sont similaires à ceux de 2014, avec une augmentation statistiquement significative de la taille et du poids entre les prélèvements 1 et 2, quel que soit le site, variation attendue à cet âge du fait de la croissance. Toutefois aucune différence n'a cette fois été décelée entre les deux sites.

Nous pouvons noter qu'aucune différence significative n'est révélée pour l'AF, sauf une pour le périmètre entre dates de prélèvement pour la station 3A. Ce paramètre étant le seul à varier et son imprécision de mesure étant la plus élevée, ce résultat reste soumis à caution. Comme précédemment, nous pouvons supposer que le niveau d'AF des différents paramètres mesurés n'est donc pas, chez les juvéniles d'oblades, modifié par le temps de résidence des individus sur le site.

III.B.1.d - Interprétation globale de ces résultats

Pour chacune des trois années où nous avons effectué des prélèvements répétées les résultats sont similaires, avec une croissance des individus attendue en fonction du temps écoulé et pas de différence significative et sur plusieurs paramètres pour l'AF pour les

otolithes. Notre conclusion est donc que le niveau d'AF ne doit pas être modifié par le temps de résidence en un même lieu des juvéniles d'oblades.

III.B.2 - Etude de l'ensemble des poissons sélectionnés ; variations inter-annuelles

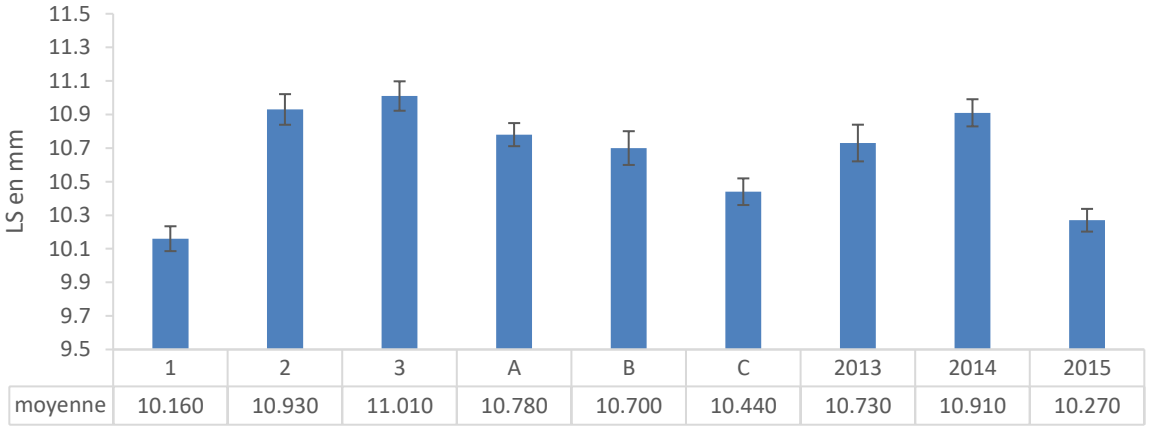
III.B.2.a - Morphologie des individus

Longueur standard

Du fait des conditions naturelles et de prélèvement, la longueur totale n'est pas fiable et ne sera pas présentée.

La LS de l'ensemble des individus était comprise entre 7,00 mm (1A en 2014 et 3B en 2015) et 25,50 mm (3B en 2015), la LS moyenne étant de 10,651 mm (± 0,048).

La LS moyenne par zones, types et années est présentée dans la Figure 3-13.



	1	2	3	A	B	C	2013	2014	2015
moyenne	10.160	10.930	11.010	10.780	10.700	10.440	10.730	10.910	10.270

Figure 3-13 : *Oblada melanura*, LS moyennes (mm) des individus par catégorie.
Le codage correspond au numéro pour la zone de prélèvement (1, 2 et 3), au type de site (A, B et C) et à l'année de prélèvement (2013, 2014 et 2015).
Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard.

Nous notons des différences des LS moyennes des poissons pour la zone, le type et l'année de prélèvement. Concernant les zones (Kruskal-Wallis $\chi^2_{2,1344}$=111,18, $p<10^{-4}$), le test de Nemenyi[16] identifie ces différences entre la zone 1 et les deux autres zones ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$), les individus prélevés dans la zone 1 sont donc globalement plus petits. Du point de vue des types (Kruskal-Wallis $\chi^2_{2,1344}$=34,527, $p<10^{-4}$), ce sont les individus provenant des sites "préservé" qui présentent des valeurs de LS significativement plus importantes que ceux des "petit cours d'eau" ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$) et des sites "port de plaisance" ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$). Enfin, pour le facteur

[16] Pairwise Test for Multiple Comparisons of Mean Rank Sums

année de prélèvement (Kruskal-Wallis $\chi^2_{2,1344}$=26,038, $p<10^{-4}$), les individus de 2015 sont significativement plus petits que ceux de 2013 ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$) et 2014 ($p_{Nemenyi}$ =1,972.10^{-3}).

Poids

La conservation des individus ayant été effectuée à -20°C à sec dans des boites de Pétri, leur poids est ici donné à titre indicatif. En effet, cette méthode de stockage ayant tendance à déshydrater les poissons, tous les individus ont subi une étape de réhydratation de 12 heures à 4°C dans de l'eau de mer artificielle avant pesée, mesure et dissection. Par conséquent les seules valeurs réellement fiables quant à leur morphologie sont les mesures de taille, le poids ayant tendance à varier en fonction de l'état d'hydratation initial du poisson.

Le poids pour l'ensemble des individus était compris entre 4 mg (1A et 1C en 2014) et 248 mg (1B en 2014), le poids moyen étant de 24,044 mg (± 0,563).

Le poids moyen par zones, types et années est présenté dans la Figure 3-14.

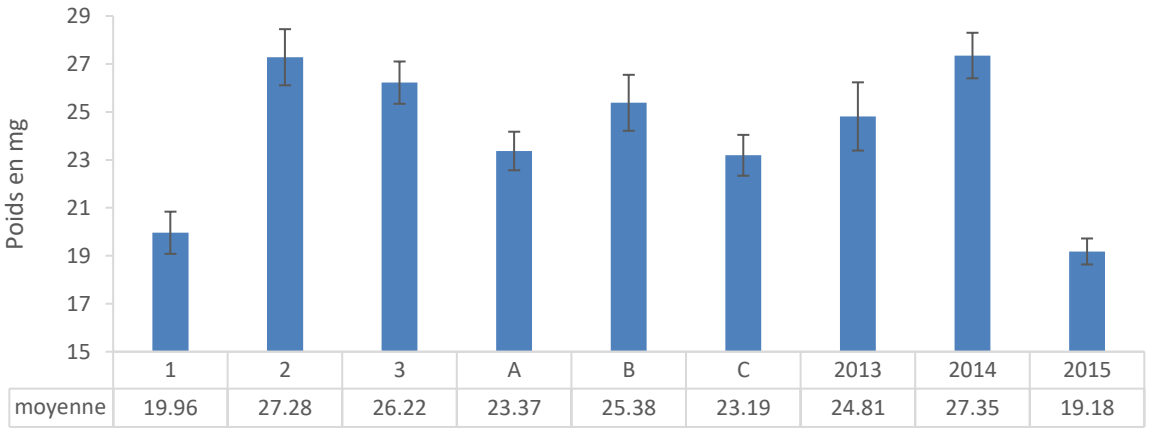


Figure 3-14 : *Oblada melanura*, poids moyens (mg) des individus par catégorie.
Le codage correspond au numéro pour la zone de prélèvement (1, 2 et 3), au type de site (A, B et C) et à l'année de prélèvement (2013, 2014 et 2015).
Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard.

Comme pour les tailles, nous notons des différences significatives entre zones d'échantillonnage, types de sites et années de prélèvement. Concernant les zones (Kruskal-Wallis $\chi^2_{2,1344}$=130,95, $p<10^{-4}$) les individus de la zone 1 présentent un poids moyen plus faible que celui des deux autres zones ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$). Du point de vue des types (Kruskal-Wallis $\chi^2_{2,1344}$=19,93, $p<10^{-4}$), les individus provenant des sites "préservé" présentent un poids significativement plus faible que ceux des sites "petit cours d'eau" ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$). Enfin, pour le facteur année de prélèvement (Kruskal-Wallis $\chi^2_{2,1344}$=33,192, $p<10^{-4}$), les individus de 2014 sont plus lourds que ceux de 2013 ($p_{Nemenyi}$=0,015) et 2015 ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$).

Indice de condition des individus

Il est important de prendre en compte plusieurs éléments concernant l'indice de condition K :

1. il n'est pas adapté aux individus en période de croissance, or les individus échantillonnés l'ont été dans une période de forte croissance,
2. les individus échantillonnés n'ayant pas grandi en conditions contrôlées, leur âge est inconnu et très probablement différent ce qui ne permet pas de les comparer les uns les autres avec cet indice,
3. le poids servant à calculer K a été obtenu après réhydratation, sa valeur n'est donc qu'indicative.

Cet indice n'étant pas fiable dans ces conditions, il n'est pas présenté.

III.B.2.b - Analyse de l'asymétrie

Prérequis

Nous allons maintenant nous intéresser à la comparaison des niveaux d'asymétrie mesurés sur ces oblades entre les années.

Élimination des données aberrantes

La méthodologie décrite par Palmer et Strobeck (Palmer & Strobeck, 2003b), basée sur des projections graphiques multiples et l'élimination des individus identifiés comme aberrants graphiquement et statistiquement à l'aide du test de Grubb's pour aberrants (Rohlf & Sokal, 1995; Sokal & Rohlf, 1995), a conduit à l'élimination de 8 individus.

Quantification de l'erreur de mesure

L'erreur de mesure a été quantifiée pour chacun des 6 paramètres étudiés sur un sous-échantillon de 33 individus. Pour chaque paramètre, l'erreur de mesure est très significativement inférieure ($p<10^{-4}$) à l'interaction individu x côté qui correspond à l'asymétrie non directionnelle (Table 3-5).

Table 3-5 : *Oblada melanura*, contrôle de l'erreur de mesure.
ANOVA modèle mixte à deux facteurs effectuée sur un sous-échantillon de 33 individus mesuré deux fois.
La variation inter-côté reflète l'asymétrie directionnelle ; la variation inter-individus reflète la variation de taille et/ou forme ; l'interaction entre côté et individus reflète l'asymétrie non directionnelle (Palmer, 1994; Somarakis *et al.*, 1997b; Palmer & Strobeck, 2003b). *** p<0.001.

	Source de variation	Carré moyen		ddl	*F* ratio		
Aire	Côté	CM_C=	$2{,}00.10^{+6}$	1	CM_C/CM_X=	0,098	
	Individus	CM_I=	$1{,}31.10^{+10}$	32	CM_I/CM_X=	639,685	***
	Interaction	CM_X=	$2{,}05.10^{+7}$	32	CM_X/CM_E=	55,527	***
	Erreur mesurée	CM_E=	$3{,}70.10^{+5}$	66			
Périmètre	Côté	CM_C=	948,60	1	CM_C/CM_X=	0,316	
	Individus	CM_I=	356697,60	32	CM_I/CM_X=	118,781	***
	Interaction	CM_X=	3003,00	32	CM_X/CM_E=	4,796	***
	Erreur mesurée	CM_E=	626,20	66			
Longueur	Côté	CM_C=	16,35	1	CM_C/CM_X=	0,054	
	Individus	CM_I=	34561,62	32	CM_I/CM_X=	115,065	***
	Interaction	CM_X=	300,37	32	CM_X/CM_E=	429,188	***
	Erreur mesurée	CM_E=	0,70	66			
Largeur	Côté	CM_C=	8,15	1	CM_C/CM_X=	0,132	
	Individus	CM_I=	11591,03	32	CM_I/CM_X=	187,843	***
	Interaction	CM_X=	61,71	32	CM_X/CM_E=	95,275	***
	Erreur mesurée	CM_E=	0,65	66			
Grand diamètre	Côté	CM_C=	145,36	1	CM_C/CM_X=	1,111	
	Individus	CM_I=	27537,31	32	CM_I/CM_X=	210,428	***
	Interaction	CM_X=	130,86	32	CM_X/CM_E=	250,420	***
	Erreur mesurée	CM_E=	0,52	66			
Petit diamètre	Côté	CM_C=	88,54	1	CM_C/CM_X=	1,886	
	Individus	CM_I=	9332,61	32	CM_I/CM_X=	198,797	***
	Interaction	CM_X=	46,95	32	CM_X/CM_E=	88,885	***
	Erreur mesurée	CM_E=	0,53	66			

De plus, à l'exception du périmètre (52,692%), l'erreur de mesure représente moins de 4% de la variance estimée d'asymétrie non directionnelle de chaque paramètre (Table 3-6).

Table 3-6 : *Oblada melanura*, quantification de l'erreur de mesure pour les 6 paramètres mesurés.

	Aire	Périmètre	Longueur	Largeur	Grand Ø	Petit Ø
Variance estimée de l'asymétrie non directionnelle (σ^2_i)	$1{,}01.10^{+7}$	$1{,}19.10^{+3}$	$1{,}50.10^{+2}$	$3{,}05.10^{+1}$	$6{,}52.10^{+1}$	$2{,}32.10^{+1}$
Approximation du nombre de degrés de liberté de σ^2_i	30,853	19,632	31,851	31,330	31,745	31,282
Erreur de mesure en pourcentage de σ^2_i	3,668	52,692	0,467	2,121	0,802	2,276
Confiance dans l'estimation de σ^2_i en %	96,415	61,350	99,534	97,907	99,202	97,757

Normalité

La normalité des données des distributions de fréquences au sein des échantillons a été testée à l'aide du test de la qualité d'ajustement de Kolmogorov-Smirnov[17] (Palmer & Strobeck, 1986; Sokal & Rohlf, 1995) sur l'indice FA6. Aucun des paramètres pour l'ensemble des années n'a révélé de différence significative entre la distribution de fréquence de la loi Normale et celle des échantillons (p>0,20).

[17] *Kolmogorov-Smirnov test for goodness of fit*

Relation taille et asymétrie

La taille du paramètre est connue comme pouvant affecter le niveau d'asymétrie (Palmer & Strobeck, 1986; Palmer, 1994; Somarakis *et al.*, 1997b). Il est donc important de vérifier s'il existe pour un paramètre observé, chez l'espèce étudiée, une relation entre l'asymétrie et la taille de ce paramètre, la taille du paramètre dépendant de la longueur standard à cet âge de forte croissance (Secor & Dean, 1989). L'étude de la corrélation entre la taille des individus (longueur standard) et l'asymétrie absolue pour le paramètre permet de répondre à cette question.

Avant d'effectuer cette mesure il est conseillé d'utiliser le logarithme népérien de ces valeurs (longueur standard et asymétrie absolue des paramètres) (Somarakis *et al.*, 1997b). Les résultats des calculs de corrélation pour l'ensemble des individus sont présentés dans la Table 3-7.

Table 3-7 : *Oblada melanura*, corrélation entre la taille des individus et l'asymétrie des paramètres. Pour chaque paramètre est indiqué le nombre d'individus N, le coefficient de corrélation r, le coefficient de détermination r^2, l'équation de la droite de régression, la p-value du test-t.

	N	r	r^2	y=	p
Aire	1337	0,376239	0,141556	2,833x -6,858	$<10^{-4}$
Périmètre	1340	0,251921	0,063464	1,875x -3,964	$<10^{-4}$
Longueur	1322	0,235219	0,055328	1,556x -5,305	$<10^{-4}$
Largeur	1319	0,259944	0,067571	1,682x -5,825	$<10^{-4}$
Gand diamètre	1339	0,258138	0,066635	1,877x -5,709	$<10^{-4}$
Petit diamètre	1340	0,114778	0,013174	0,821x -6,097	$<10^{-4}$

Pour chaque paramètre le r^2 est faible indiquant une faible corrélation, cependant les p-values indiquent une corrélation significative entre la taille des individus et l'asymétrie pour chaque paramètre. Nous utiliserons donc un indice d'asymétrie tenant compte de cette corrélation (Palmer, 1994; Somarakis *et al.*, 1997b; Palmer & Strobeck, 2003b).

Asymétrie directionnelle

Avant d'aller plus loin nous devons nous intéresser aux conditions permettant de déterminer si l'asymétrie répond aux critères d'AF. Ces tests ont été réalisés du plus grand (année) au plus petit (prélèvement) niveau de regroupement dont la comparaison était souhaité (Palmer & Strobeck, 2003b).

La présence d'une AD a été testée à l'aide d'un test-t. L'ensemble des paramètres à l'exception de la hauteur du rectangle le mieux adapté et du grand diamètre de la BFE en 2013 présentent une AD significative à très significative et cela même après la procédure FDR.

Travaillant à une échelle spatiale où une absence de différence génétique entre population a été montrée (Calò *et al.*, 2016), et ne retrouvant pas cette AD pour des échantillons de plus petites dimensions (III.B.1 -ci-avant et III.B.3 -ci-après), l'origine de cette AD semble à rechercher du côté de la taille des échantillons (concernant ici l'ensemble des individus d'une même année) comme l'ont montré Palmer et Strobeck (Palmer & Strobeck, 2003b). Etant dans le cas de grands échantillons (N_{min}=288), si nous comparons la valeur moyenne de la série à : $0{,}798\sqrt{var(\text{série})}$, nous constatons que l'ensemble des moyennes est inférieur à cette valeur (Palmer & Strobeck, 2003b). Nous avons donc corrigé cette AD en centrant les valeurs par rapport à la moyenne de leur groupe (Palmer, 1994) :

$$\Delta_i = \left[\frac{(D_i - G_i)}{(D_i + G_i)/2}\right] - \left[\frac{\sum_{k=1}^{n}\left(\frac{(D_k - G_k)}{(D_k + G_k)/2}\right)}{n}\right]$$

où *i* correspond à l'individu mesuré, *k* le k^{ième} individu et n le nombre total d'individus du groupe. Cette correction peut aussi être prise en compte en valeur absolue :

$$|\Delta_i| = \left|\left[\frac{(D_i - G_i)}{(D_i + G_i)/2}\right] - \left[\frac{\sum_{k=1}^{n}\left(\frac{(D_k - G_k)}{(D_k + G_k)/2}\right)}{n}\right]\right|$$

Étude de l'asymétrie

Une fois l'AD corrigée, nous avons analysé l'asymétrie fluctuante pour chaque paramètre entre les différentes années. Comme nous le voyons sur la Figure 3-15 ci-dessous, les valeurs moyennes d'asymétrie absolue par année pour chacun des 6 paramètres observés sont du même ordre de grandeur (1,00% à 1,67%) à l'exception du périmètre (1,93% à 2,43%).

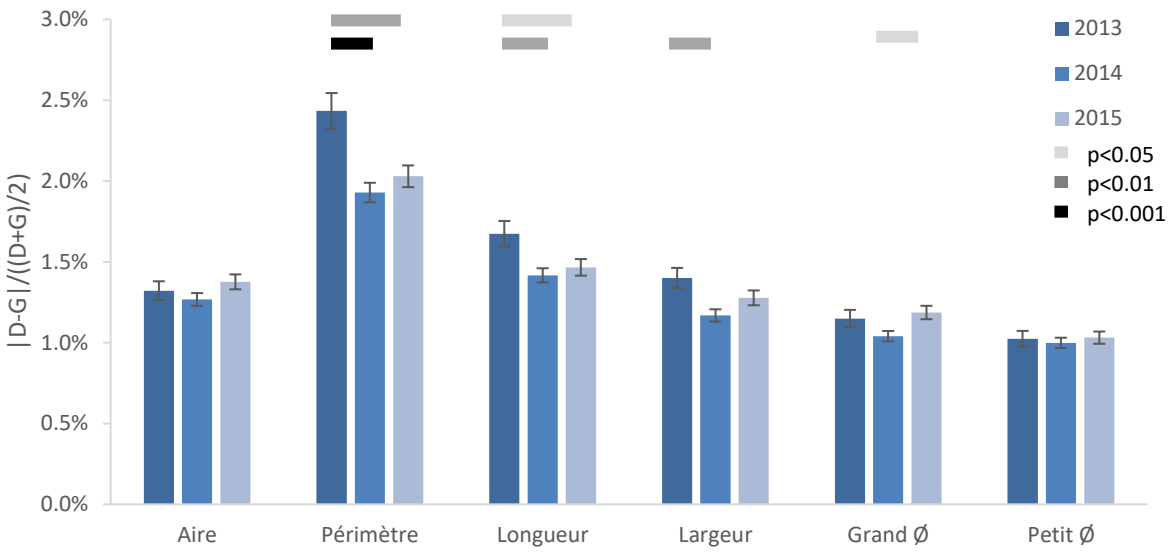


Figure 3-15 : *Oblada melanura*, valeurs moyennes de l'indice corrigé d'asymétrie absolue par paramètre et par année. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard.

De manière générale les valeurs moyennes d'asymétrie sont plus importantes en 2013 qu'en 2015 qui sont elles-mêmes plus importantes qu'en 2014.

Une ANOVA à un facteur (année) a ensuite été utilisée pour comparer les moyennes des différentes années entre elles. Cette ANOVA révèle une différence significative entre les années pour le périmètre ($p=3{,}10.10^{-5}$), la longueur (p=0,006), la largeur du rectangle (p=0,004) et le grand diamètre de la BFE(p=0,016). Le test post-hoc de Tukey permet de situer les différences pour chacun des paramètres comme suit :

Table 3-8 : *Oblada melanura*, post-hoc de Tukey, AF entre années de prélèvement pour chacun des paramètres mesurés. Les niveaux de significativité p sont présentés.

	Paramètre	2013	2014
2014	Aire		
	Périmètre	$3{,}86.10^{-5}$	
	Longueur	0,004	
	Largeur	0,003	
	Grand diamètre		
	Petit diamètre		
2015	Aire		
	Périmètre	0,002	
	Longueur	0,040	
	Largeur		
	Grand diamètre		0,015
	Petit diamètre		

III.B.2.c - Interprétation de ces résultats

En moyenne, les individus échantillonnés en 2015 présentent une longueur standard plus faible que ceux de 2013 et 2014, ainsi qu'un poids plus faible que ceux de 2014. Ce phénomène peut s'expliquer quand nous observons les périodes d'échantillonnage de ces trois années :

- 2013 : du 10 juillet au 30 juillet

- 2014 : du 23 juin au 16 juillet
- 2015 : du 15 juin au 1er juillet.

Les poissons de 2015 ayant été échantillonnés plus précocement et sur une durée plus brève (moins de temps pour se développer) qu'en 2013 et 2014, devaient être plus jeunes et donc de plus faible corpulence (LS et poids). Les différences de tailles et poids observées entre les zones sont plus ardues à expliquer, et cela même en tenant compte de la séquence de prélèvement (zone 3 puis 1 puis 2). Les individus de plus petite corpulence au niveau de la zone 1 sont peut-être le signe d'une installation plus tardive des oblades au niveau de l'Estérel. Enfin, si nous nous intéressons aux types, la majorité des différences concernent les sites "préservé", ces derniers présentant une LS plus importante que les deux autres types et un poids plus faible que les individus des "petit cours d'eau". Ces résultats ne permettent pas de déterminer, du point de vue de l'ensemble des prélèvements, une tendance particulière associée aux types de sites.

Concernant l'asymétrie, les individus prélevés en 2013 présentent une asymétrie significativement plus grande pour différents paramètres analysés. Des variations d'AF sont aussi révélées entre les deux autres années. Si nous mettons en parallèle ce résultat avec les données de morphologie des individus, nous pouvons supposer qu'en 2015, où les oblades ont eu globalement moins de temps pour se développer avant l'échantillonnage, les individus ont subi l'effet de l'environnement moins longtemps, entraînant un effet plus faible sur l'AF qu'en 2013. Une autre hypothèse peut être plus simplement que les conditions environnementales varient selon les années.

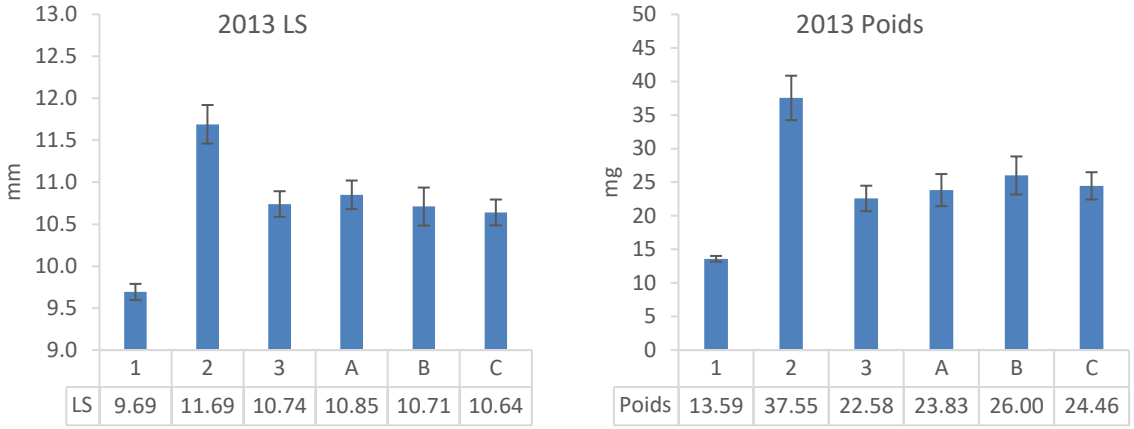
Les trois années présentant globalement des niveaux d'asymétrie significativement différents pour plusieurs paramètres, une analyse des données de chaque année de manière indépendante semble pertinente. Nous avons donc étudié les différences entre zones, types, ou sites pour chaque année.

III.B.3 - Influence de l'environnement

III.B.3.a - Prélèvements de 2013

Morphologie des individus

La comparaison des paramètres morphologiques moyens des individus de chaque station prélevée en 2013 fait ressortir quelques éléments intéressants (Figure 3-16).



	1	2	3	A	B	C
LS	9.69	11.69	10.74	10.85	10.71	10.64

	1	2	3	A	B	C
Poids	13.59	37.55	22.58	23.83	26.00	24.46

Figure 3-16 : *Oblada melanura*, LS et poids moyens selon la zone ou le type d'origine en 2013. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard.

Nous notons que des différences significatives existent entre les zones pour les LS (Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,291}$=60,606 ; $p<10^{-4}$) et les poids (Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,291}$=71,143 ; $p<10^{-4}$), et entre les types de sites pour les poids (Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,291}=3{,}317.10^{-3}$; $p<10^{-4}$). Les individus de la zone 1 présentent une LS et un poids significativement plus faibles que ceux des zones 2 ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$) et 3 ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$). A l'inverse, les individus de la zone 2 présentent des valeurs de LS et de poids significativement plus importantes que celles des zones 1 (LS : $p_{Nemenyi}<10^{-4}$; poids : $p_{Nemenyi}<10^{-4}$) et 3 (LS : $p_{Nemenyi}=4{,}687.10^{-3}$; poids : $p_{Nemenyi}<10^{-4}$). Concernant les types de sites, les individus des sites "petit cours d'eau" présentent un poids significativement supérieur à celui des oblades des sites "préservé" ($p_{Nemenyi}$ =0,012) et des "port de plaisance" ($p_{Nemenyi}$ =0,020).

Analyse de l'asymétrie

Zones et types

Le test de la qualité d'ajustement de Kolmogorov-Smirnov n'a révélé aucune différence significative entre la distribution de fréquence de la loi Normale et celle des échantillons pour l'ensemble des paramètres en 2013.

La présence d'AD a été vérifiée à l'aide d'un test-t, la procédure FDR a ensuite été utilisée pour valider les résultats significatifs :

- Aire : Zones 1 et 3 ($p<0,01$; $p_{FDR}<0,05$) ; types A ($p<0,05$; $p_{FDR}>0,05$) et C ($p<0,01$; $p_{FDR}<0,05$)
- Périmètre : zones 1 et 3 ($p<0,05$; $p_{FDR}>0,05$) ; type A ($p<0,01$; $p_{FDR}<0,05$)
- Largeur du rectangle : zones 1 et 3 ($p<0,05$; $p_{FDR}>0,05$) ; type A et C ($p<0,01$; $p_{FDR}<0,05$)

- Petit diamètre de la BFE : zones 1, 2 ($p<0,01$; $p_{FDR}<0,05$) et 3 ($p<0,05$; $p_{FDR}>0,05$) ; type A et C ($p<0,01$; $p_{FDR}<0,05$).

Toutefois étant avec de grands échantillons (N minimum = 90) nous avons pu vérifier que dans ces cas la moyenne de la série était bien inférieure à $(0{,}798\sqrt{var(\text{série})})$. Comme précédemment cette AD pour l'aire, le périmètre, la largeur du rectangle et le petit diamètre de la BFE a été corrigée en centrant les valeurs par rapport à la moyenne de leur groupe. Les niveaux d'AF par zones ou par types de sites sont présentés dans la Figure 3-17.

Aucune différence ne semble *a priori* ressortir entre les zones pour les six paramètres observés, de possibles différences semblent exister entre les types pour le périmètre et la longueur du rectangle.

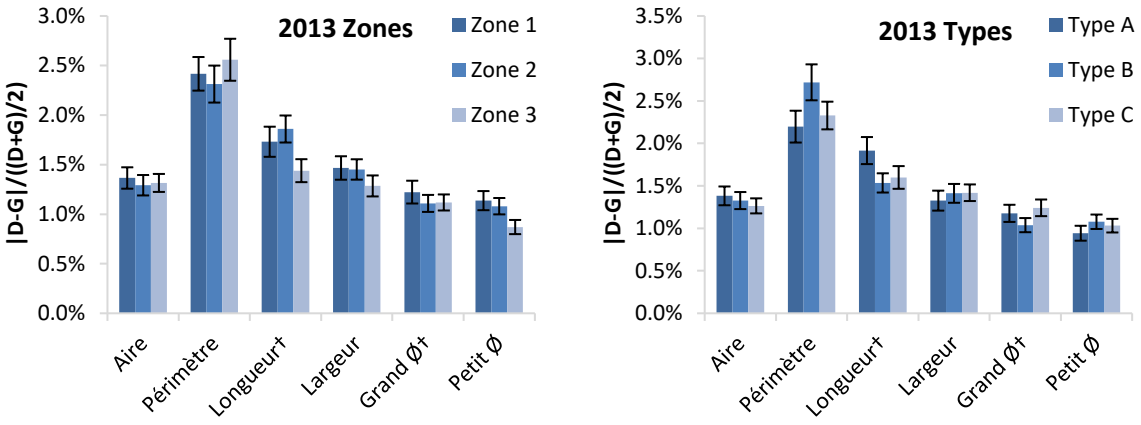


Figure 3-17 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par zones ou par types en 2013. Les paramètres suivis d'une † ne présentaient pas d'AD et n'ont pas été corrigés. Barres d'erreur : erreur standard.

Les comparaisons entre zones ou entre types ont été effectuées sur les données d'asymétrie absolue corrigées pour l'AD quand nécessaire, à l'aide d'une ANOVA à un facteur. Aucune différence significative entre les zones ou entre les types n'a été mise en évidence pour aucun des paramètres.

Sites

Pour l'ensemble des paramètres de l'ensemble des sites de l'année 2013 la condition de Normalité vérifiée à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov est respectée.

L'absence ou non d'AD a été vérifiée à l'aide d'un test-t pour l'ensemble des paramètres pour chacun des sites et après la procédure FDR deux sites présentent une AD significative pour la largeur du rectangle, les sites 1A ($p= 0,0318$; $p_{FDR}<0,05$) et 3C ($p= 2,831.10^{-4}$; $p_{FDR}<0,01$). Ces deux sites comprennent un nombre relativement modeste d'individus,

respectivement 26 et 29, nous ne corrigerons donc pas cette AD mais devrons en tenir compte dans les résultats de comparaisons des sites pour ce paramètre.

Sur les données d'asymétrie absolue pour 6 paramètres mesurés en 2013 pour chacun des 9 sites échantillonnés (Figure 3-18), nous notons que les niveaux moyens d'asymétrie sont compris entre 0,7% et 1,6% sauf pour la longueur du rectangle et une fois encore pour le périmètre.

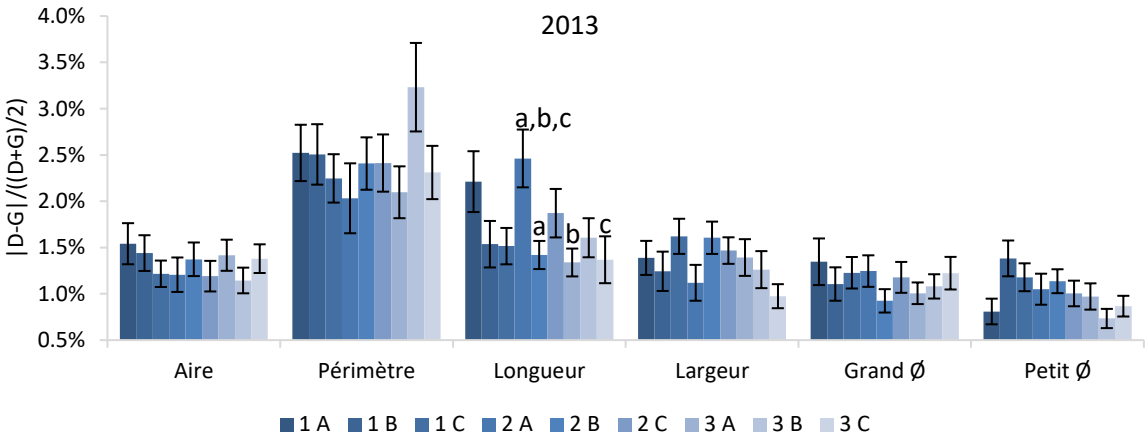


Figure 3-18 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par sites, en 2013. Barres d'erreur : erreur standard ; lettres : différences significatives.

Quatre sites présentent des niveaux d'asymétrie plus élevés que les autres. Il s'agit pour le périmètre du site 3B (3,288% ±0,475) et pour la longueur du rectangle des sites 1A (2,176% ±0,351), 2A (2,469% ±0,307) et 2C (1,951% ±0,245). D'autres valeurs sont remarquables par leurs faibles niveaux d'AF qui les différencient des autres sites. Ce sont, pour le petit diamètre, les sites 1A (0,833% ±0,176) et 3B (0,723% ±0,101).

La comparaison des asymétries moyennes des différents sites pour chacun des 6 paramètres mesurés a été effectuée à l'aide d'une ANOVA à un facteur (site). Seule la longueur du rectangle présente une différence significative entre les sites. Le test post-hoc HSD de Tukey permet de localiser les différences significatives entre le site 2A et les sites 2B, 3A et 3C (2A: 2B p_{HSD}= 3,873.10^{-2} ; 2A: 3A p_{HSD}= 1,874.10^{-2} ; 2A : 3C.p_{HSD}= 4,390.10^{-2}).

Interprétation de ces résultats

L'organisation des LS et poids moyens selon les zones (1<3<2) ne semble pas s'expliquer par la date de prélèvement :

10/07	17/07	22/07	24/07	26/07
3A	2B, 2C	1A, 1C	3B,3C	1B, 2A

De fait l'évolution de ces paramètres ne semble pas ici associée au cours du temps, alors que nous avions une augmentation de LS et de poids au cours du temps sur un même site. Cela semble indiquer une indépendance des zones les unes par rapports aux autres. De plus, un poids plus important pour une taille similaire pouvant être interprété comme des réserves énergétiques plus conséquentes, les valeurs de poids plus importantes, sans différence de LS, pour le type de stations "petit cours d'eau" par rapport aux deux autres types pourraient indiquer des conditions plus favorables aux oblades au niveau de ces stations.

Aucune différence significative n'a été mise en évidence sur les données d'AF que ce soit entre zones ou entre types de stations. Les seules différences significatives sont observées entre sites et concernent la longueur du rectangle entre le site 2A et les sites 2B, 3A et 3C. Nous avons vérifié les différences potentielles entre sites pour la LS et le poids, sans les présenter ici, et pour les stations concernées par une AF aucune différence significative n'a été rencontrée.

En conclusion, sur une campagne d'échantillonnage tardive et étalée sur 16 jours, bien que nous ayons montré un effet de la zone sur la LS et le poids et un effet du type de stations sur le poids, zones et types de stations ne semblent pas impacter l'AF des *sagittae* en 2013. Une tendance à un effet des sites sur l'AF peut être suspectée.

III.B.3.b - Prélèvements de 2014

Morphologie des individus

La comparaison des paramètres morphologiques moyens des individus de chaque station prélevée en 2014 fait ressortir quelques éléments remarquables (Figure 3-19).

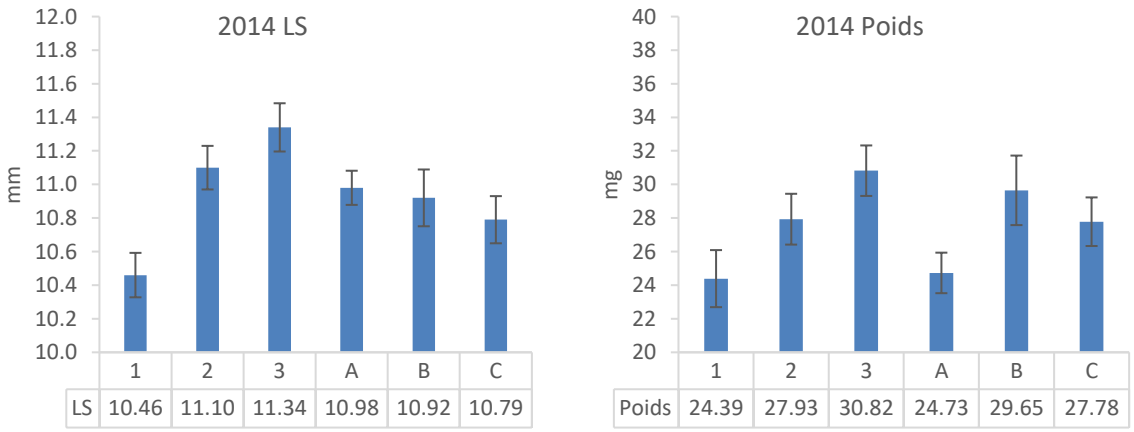


Figure 3-19 : *Oblada melanura*, tailles et poids moyens selon la zone ou le type d'origine en 2014. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard.

Des différences significatives existent entre zones pour la LS et pour le poids, et entre types pour la LS. De manière similaire à 2013, c'est entre les zones de prélèvement que les différences sont les plus significatives (LS : Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,599}$=40,011 ; $p<10^{-4}$; poids : Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,599}$=55,800 ; $p<10^{-4}$). Les individus de la zone 1 présentent des LS et des poids significativement inférieurs aux deux autres zones ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$). Concernant les types, seules les LS présentent des différences significatives (LS : Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,599}$=11,747 ; $p=2{,}810.10^{-3}$), les individus des sites "préservé" ayant une LS significativement ($p_{Nemenyi}=1{,}903.10^{-3}$) plus importante que ceux des sites "petit cours d'eau".

Analyse de l'asymétrie

Zones et types

Comme en 2013, après vérification à l'aide du test de la qualité d'ajustement de Kolmogorov-Smirnov, l'ensemble des groupes de zones comme de types respectent la condition de Normalité.

Une nouvelle fois la présence d'AD a été testée à l'aide d'un test-t. L'aire présente une AD très significative au niveau des différentes zones ainsi qu'au niveau des différents types de stations (ensemble des $p < 0{,}05$) même après procédure FDR (ensemble des $p_{FDR} < 0{,}05$). Les autres paramètres présentent aussi au moins une zone et un type possédant une AD significative. Ce sont encore une fois de grands échantillons (N minimum = 161), et la condition de moyenne < $(0{,}798\sqrt{var(\text{série})})$ est respectée pour l'ensemble des groupes. Nous avons donc procédé à une correction de ces données en centrant les valeurs par rapport à la moyenne de leur groupe.

Concernant les valeurs d'asymétrie absolue des 6 paramètres observés pour 2014, pour les différentes zones ou les différents types (Figure 3-20), nous notons qu'il semble exister peu de différence entre les zones ainsi qu'entre les types de stations. Les seuls paramètres laissant supposer une différence entre les groupes sont, pour les zones, (Figure 3-20, Gauche) l'aire et le périmètre.

Pour les types (Figure 3-20, Droite), l'aire uniquement semble varier.

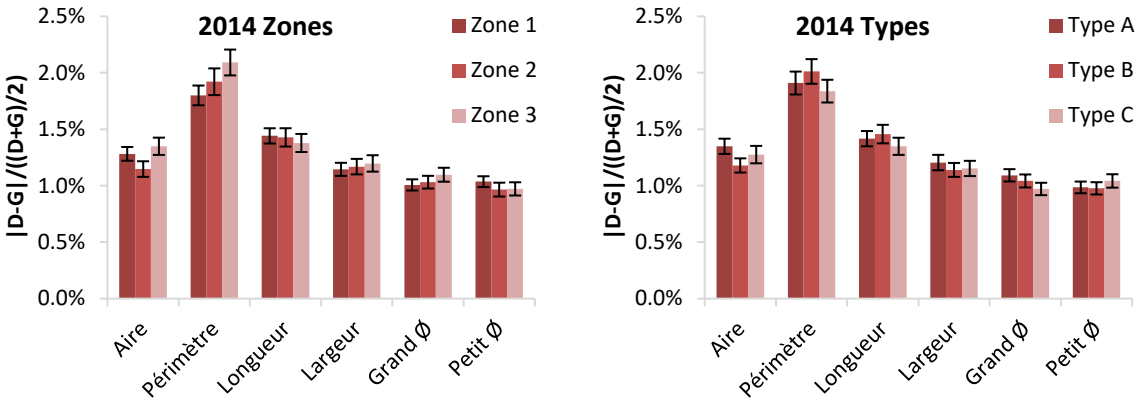


Figure 3-20 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par zones ou par types en 2014. Barres d'erreur : erreur standard.

Comme pour 2013, pour chacun des 6 paramètres, les groupes de zones, et ceux de types, ont été comparés entre eux à l'aide d'une ANOVA à un facteur (zone puis type). Cette comparaison a été effectuée sur les données d'asymétrie absolue (FA2) corrigées pour l'AD. Aucune différence significative entre les zones ou entre les types de stations n'a été mise en évidence par ce test pour aucun des 6 paramètres mesurés.

Sites

Comme pour 2013, la condition de Normalité vérifiée à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov est respectée pour l'ensemble des paramètres pour l'ensemble des sites.

L'absence ou non d'AD a été vérifiée à l'aide d'un test-t, et après la procédure FDR quatre sites présentent une AD significative pour l'aire : il s'agit des sites 2B (p= 0,0207 ; p_{FDR}<0,05), 2A (p= 3,382.10^{-3} ; p_{FDR}<0,05), 1C (p=5,368.10^{-3} ; p_{FDR}<0,05) et 2A (p= 7,603.10^{-3} ; p_{FDR}<0,05). Ces quatre sites comprennent un nombre raisonnable d'individus, respectivement 90, 93, 62 et 65, la vérification de la condition asymétrie moyenne < $(0{,}798\sqrt{var(\text{série})})$ est respectée, nous avons donc envisagé une correction. Cependant l'un des autres groupes présentant un nombre d'individu restreint (2C, n=32) nous avons effectué les comparaisons pour l'aire avec et sans correction de l'AD.

Les données d'asymétrie absolue pour 6 paramètres mesurés en 2013 pour chacun des 9 sites échantillonnés sont présentés à la Figure 3-21.

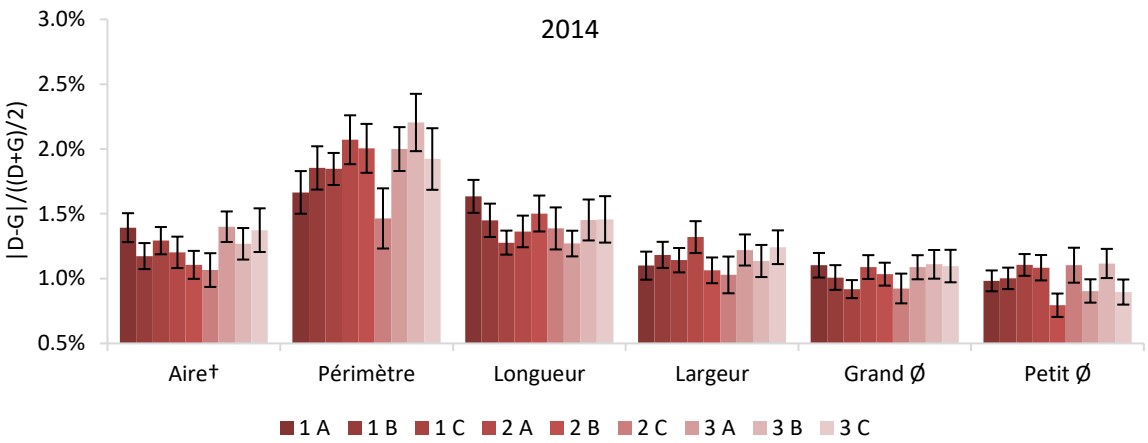


Figure 3-21 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par sites, en 2014.
Le paramètre suivi d'une † ne présentaient pas d'AD et n'a pas été corrigé. Barres d'erreur : erreur standard.

La comparaison des asymétries moyennes des différents sites pour chacun des 6 paramètres mesurés a été effectuée à l'aide d'une l'ANOVA à un facteur (site). Aucune différence significative n'a été trouvée entre les sites pour aucun des paramètres mesurés, avec ou sans correction de l'AD.

Interprétation de ces résultats

Comme en 2013, les valeurs de LS et de poids de la zone 1 sont significativement inférieures à celles pour les deux autres zones. Aucune différence n'a pu être mise en évidence entre les zones 2 et 3. Comme en 2013, aucune tendance à l'augmentation de ces valeurs avec le temps ne semble exister en mettant en parallèle ces valeurs et les dates de prélèvement :

23/06	24/06	30/06	01/07
3A, 3B, 3C	1A, 1C	1B, 2A, 2B	2C

En effet, si le temps avait influencé des tailles et poids, la zone 3 aurait dû présenter les valeurs les plus faibles. Concernant les types de stations, nous ne notons cette fois qu'une différence, pour la LS, entre les sites "préservé" et "petit cours d'eau". Comme en 2013 les "ports de plaisance" ne semblent pas ressortir du point de vue de la morphologie des individus.

En 2014, aucune différence significative n'a été mise en évidence sur les données d'AF entre zones, types ou sites.

En conclusion, cette campagne d'échantillonnage relativement courte (8 jours), met en évidence une différence de morphologie entre les zones, les plus petits et légers individus étant rencontrés dans la zone 1, malgré des prélèvements effectués en commençant par la zone 3. Les individus plus petits et légers en zone 1, en 2014 comme en 2013, nous amènent

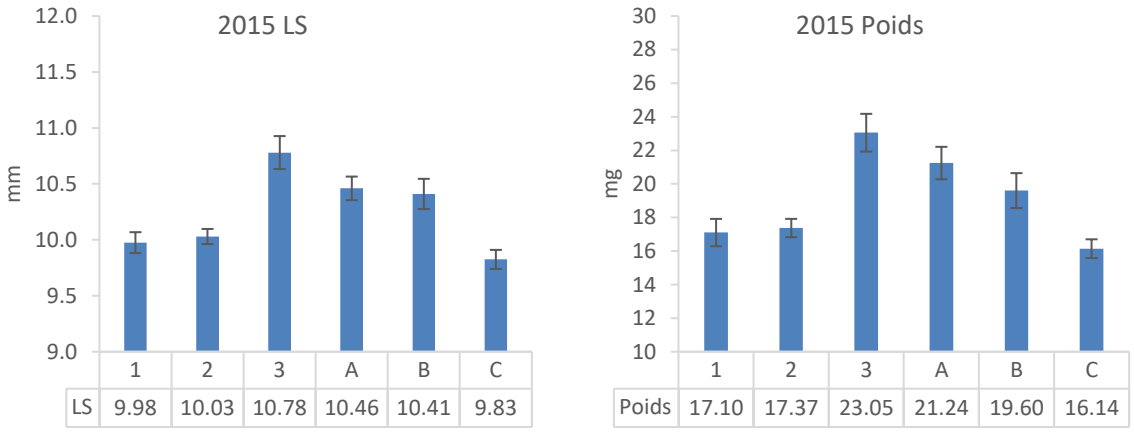
à poser l'hypothèse d'une arrivée plus tardive des individus dans la zone 1 que dans les autres zones. L'étude de l'AF ne permet pas de différencier les groupes (zones, types ou sites) les uns des autres. Comme en 2013, nous notons que l'environnement de résidence des oblades influence leur morphologie, mais que cet environnement de résidence ne semble pas avoir d'effet sur le niveau d'asymétrie fluctuante de leurs *sagittae*.

III.B.3.c - Prélèvements de 2015

Comme indiqué dans la partie III.A - Échantillonnage, en 2015 aucun poisson n'a été rencontré au niveau du site 2C ("Marina Baie des Anges") malgré leur présence sur l'ensemble des autres sites.

Morphologie des individus

En 2015 quelques éléments semblent ressortir des valeurs moyennes de tailles et de poids (Figure 3-22).



	1	2	3	A	B	C
LS	9.98	10.03	10.78	10.46	10.41	9.83

	1	2	3	A	B	C
Poids	17.10	17.37	23.05	21.24	19.60	16.14

Figure 3-22 : *Oblada melanura*, LS et poids moyens selon la zone ou le type d'origine en 2015. Les barres d'erreur correspondent à l'erreur standard.

Du point de vue des LS et des poids, des différences significatives existent comme les deux années précédentes entre zones de prélèvement (LS : Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,454}$=41,421, p<10^{-4} ; poids : Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,454}$=34,640, p<10^{-4}). Des différences significatives entre types de stations pour la LS et le poids (LS : Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,454}$=21,985, p<10^{-4} ; poids : Kruskal-Wallis $\chi^2_{3,454}$=22,590, p<10^{-4}) sont observées pour les échantillons récoltés en 2015. Du point de vue des zones, la zone 3 présente des valeurs de LS et de poids significativement supérieurs aux zones 1 (LS : $p_{Nemenyi}$<10^{-4} ; poids : $p_{Nemenyi}$<10^{-4}) et 2 (LS : $p_{Nemenyi}$<10^{-4} ; poids : $p_{Nemenyi}$=3,064.10^{-3}). Concernant le poids selon les zones, un gradient significatif existe d'Ouest en Est (1<2 : $p_{Nemenyi}$= 0,027 ; 2<3 : $p_{Nemenyi}$=3,067.10^{-3} ; 1<3 : $p_{Nemenyi}$<10^{-4}). Concernant les types de stations, les individus de "port de plaisance" ont une LS significativement plus faible

que celle des types "préservé" ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$) et "petit cours d'eau" ($p_{Nemenyi}= 8{,}796.10^{-3}$). Du point de vue du poids selon les types de stations, les individus issus de type "préservé" sont significativement plus lourds que ceux des types "petit cours d'eau" ($p_{Nemenyi}=1{,}766.10^{-3}$) et "port de plaisance" ($p_{Nemenyi}<10^{-4}$).

Analyse de l'asymétrie

Zones et types

Comme précédemment, la Normalité des données a été vérifiée pour l'ensemble des paramètres entre les zones comme entre les types de stations.

Concernant l'AD, vérifiée à l'aide d'un test-t, nous constatons que seuls les paramètres longueur du rectangle pour les zones et les types ainsi que grand diamètre de la BFE pour les types de stations ne présentent pas d'AD significative. Les autres paramètres comprennent au moins une zone ou un type de stations ayant une AD significative avant procédure FDR. Nous sommes une nouvelle fois dans le cadre de grands échantillons (N minimum = 129), les groupes présentant un test-t significatif valident une nouvelle fois la condition de moyenne < $(0{,}798\sqrt{var(\text{série})})$. Nous avons donc, comme en 2013 et 2014, effectué une correction de cette AD par la moyenne du groupe pour les paramètres concernés.

Pour l'année 2015, aucune différence ne semble exister entre les zones comme entre les types pour les 6 paramètres observés (Figure 3-23).

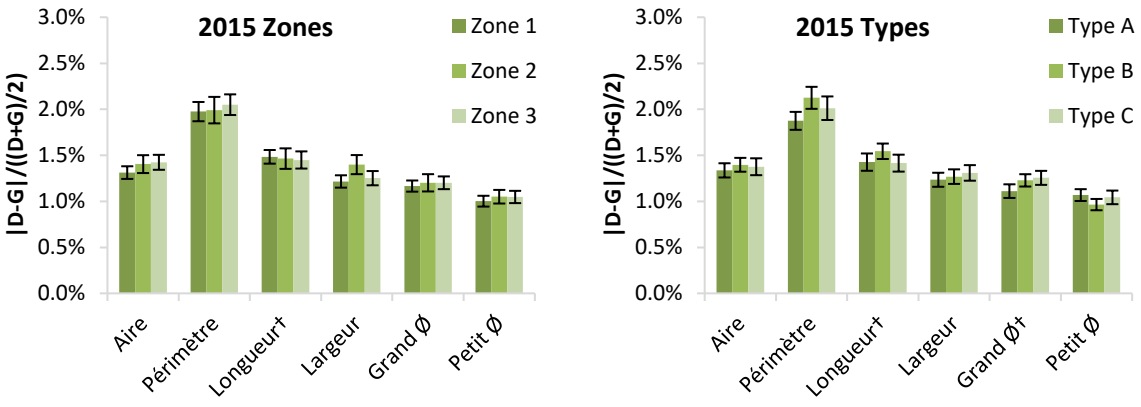


Figure 3-23 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par zones ou par types en 2015. Les paramètres suivis d'une † ne présentaient pas d'AD et n'ont pas été corrigés. Barres d'erreur : erreur standard.

Les comparaisons des zones entre elles et des types entre eux ont été effectuées à l'aide d'une ANOVA à un facteur (zone ou type). Aucune différence significative n'a été trouvée entre les zones ni entre les types.

Sites

Pour l'année 2015, la condition de Normalité vérifiée à l'aide du test de Kolmogorov-Smirnov est respectée pour l'ensemble des paramètres pour l'ensemble des sites.

L'absence ou non d'AD a été vérifiée à l'aide d'un test-t. Après la procédure FDR, quatre sites présentent une AD significative pour l'aire et deux pour le périmètre :

- Aire 1A : p= 3,206.10^{-3} ; p_{FDR} <0,05 — Aire 2A : p= 8,409.10^{-3} ; p_{FDR} <0,05
- Aire 1B : p= 1,618.10^{-2} ; p_{FDR} <0,05 — Aire 3B : p= 3,995.10^{-3} ; p_{FDR} <0,05
- Périmètre 1A : p= 3,419.10^{-6} ; p_{FDR} <0,001 — Périmètre 3A : p= 1,030.10^{-3} ; p_{FDR} <0,01.

Ces cinq sites ont un nombre d'individus compris entre 43 et 66, la vérification de la condition asymétrie moyenne < $(0{,}798\sqrt{var(\text{série})})$ est respectée, nous avons donc envisagé une correction. Cependant, comme précédemment, ces échantillons étant de grande taille (n>30) sans être de très grande taille (n>90) nous effectuerons les comparaisons pour l'aire et le périmètre avec et sans correction de l'AD.

Les données d'asymétrie absolue pour 6 paramètres mesurés en 2013 pour chacun des 8 sites échantillonnés sont présentés à la Figure 3-24.

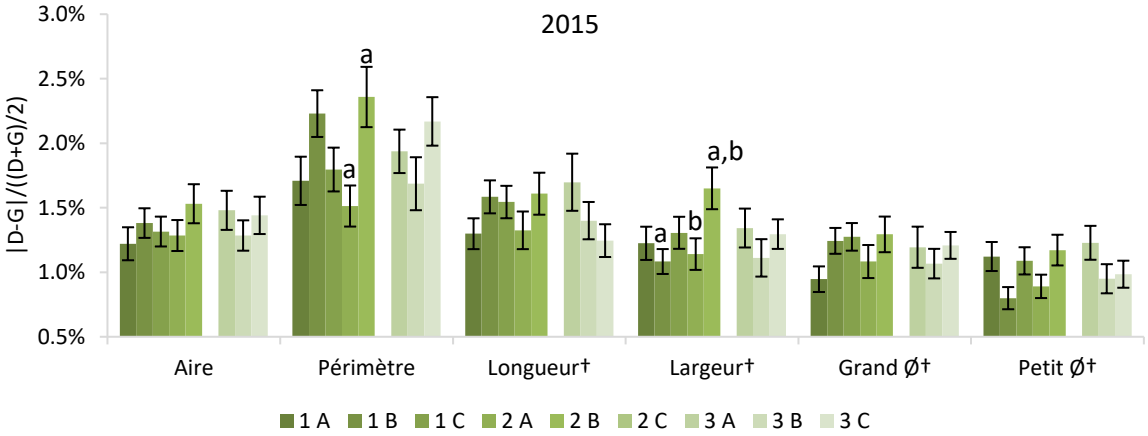


Figure 3-24 : *Oblada melanura*, asymétrie absolue (FA2) moyenne par paramètre, par sites, en 2015.
Aucune oblade n'a pu être récupérée au site 2C en 2015. Les paramètres suivis d'une † ne présentaient pas d'AD et n'ont pas été corrigés. Barres d'erreur : erreur standard ; lettres : différences significatives.

Une ANOVA à un facteur (site) permet de mettre en évidence des différences significatives pour le périmètre ($F_{8,452}$=2,560 ; p = 0,014) et la largeur du rectangle ($F_{8,452}$=2,248 ; p = 0,030). Le test post-hoc HSD de Tukey localise ces différences pour le périmètre entre les sites 2A et 2B (p_{HSD}=0,036), et pour la largeur du rectangle entre le site 2B et les sites 1B (p_{HSD}=0,015) et 2A (p_{HSD}=0,045).

Interprétation de ces résultats

Contrairement aux années précédentes, en 2015 les individus de la zone 1 ne présente une LS et un poids inférieurs qu'à ceux de la zone 3, mais la tendance de la zone 1 à avoir des individus plus petits et légers reste. Cette zone 3 présente des valeurs de LS et de poids supérieurs aux deux autres zones.

Comme pour les années précédentes, les dates de prélèvement ne semblent pas expliquer les différences entre zones :

15/06	22/06	23/06	25/06	29/06
3A, 3B	1A, 1C	1B, 2A	3C	2B

Encore une fois, si les paramètres morphologiques étaient associés uniquement à la date de prélèvement nous nous serions attendu à des valeurs de LS et de poids plus faibles dans la zone 3. Or la zone 3 présente les valeurs les plus élevées pour ces deux paramètres. Concernant les types de stations, nous notons pour cette année que les individus du type "port de plaisance" présentent une LS inférieure à celles deux autres types, ainsi qu'un poids plus faible que les individus du type "préservé". Les individus du type de stations "préservé" présentent d'ailleurs un poids supérieur aux deux autres types de stations. Contrairement à 2013 et 2014, en 2015 les "ports de plaisance" ont tendance à ressortir du point de vue de la morphologie des individus.

Comme précédemment, aucune différence significative n'a été détectée sur les données d'AF que ce soit entre zones ou entre types de stations. Entre sites, des différences significatives ont été révélées seulement pour le périmètre entre les sites 2A et 2B, et pour la largeur du rectangle entre le site 2B et les sites 1B et 2A. Nous avons vérifié les différences potentielles entre sites pour la LS et le poids, sans les présenter ici, et pour les stations concernées par une AF aucune différence significative n'a été rencontrée à la fois pour la LS et le poids.

En conclusion, bien que 14 jours séparent le premier du dernier prélèvement nous n'avons pas constaté de différences des tailles et poids des individus entre zones pouvant être mise en relation avec les dates de prélèvement, la zone 1 ayant tendance à présenter des valeurs inférieures comme pour les deux années précédentes. Nous observons que pour cette année 2015, les individus des stations de type "port de plaisance" présentent des valeurs morphologiques plus faibles que celles des autres types de stations, signe d'un possible impact

de l'environnement où ils résident sur leur développement. L'étude de l'AF ne fait ressortir que trois différences entre sites réparties entre deux paramètres. Seule la différence entre les sites 2A et 2B qui est confirmée pour les deux paramètres semble potentiellement plausible. Notons qu'une différence d'AF entre sites 2A et 2B avait été observée également en 2013. A l'échelle des zones et types aucune différence significative d'AF ne ressort pour aucune des 3 années. Nous notons une nouvelle fois que l'environnement de résidence des oblades conditionne la morphologie des individus, mais nous n'avons pas détecté d'effet net de cet environnement sur le niveau d'asymétrie fluctuante des *sagittae*.

Les résultats obtenus pour la comparaison interannuelle et l'influence de l'environnement sur l'AF ont été présentés dans un article intitulé "*Assessment of the use of Oblada melanura (L. 1758) otolith fluctuating asymmetry as environmental disturbance indicator*", soumis à Marine Environmental Research. Cet article est accepté sous réserve de modifications.

III.C - Analyse de Forme

Il a été montré, dans le cas de poissons adultes, que l'environnement dans lequel les individus évoluent influence la forme des otolithes (Secor & Dean, 1989; Campana & Casselman, 1993; Anken *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2002; Galley *et al.*, 2006). Cette partie s'attachera à démontrer l'utilisation possible de la forme des otolithes (*sagittae*) de post-larves et juvéniles d'*Oblada melanura* comme indicateur sensible et précoce de perturbation de l'environnement. Elle sera pour cela présentée en deux sous-parties. Une première abordera l'influence de la croissance des individus sur la forme de l'otolithe et décrira une méthode pour en limiter l'impact lors de la comparaison de plusieurs environnements, ainsi que des recommandations pour l'utilisation des variations de formes des otolithes en bioindication. Une seconde sous-partie présentera une application de cet indicateur dans un cas pratique : la comparaison de trois environnements définis par leurs sources de perturbations associées ("préservé", "eau douce", "port") répétée dans trois zones géographiques différentes.

III.C.1 - Validation de l'analyse de forme des *sagittae* comme indicateur

Chez les poissons adultes il est possible de déterminer l'espèce à laquelle appartient un individu partir de la forme de ses otolithes, la forme de l'otolithe étant spécifique de l'espèce. (Morrow, 1979; L'Abée-Lund, 1988). Cependant il est important de noter que cette forme varie avec la croissance de l'animal jusqu'au stade adulte (Secor & Dean, 1989; Campana &

Casselman, 1993). Ceci peut être facilement illustré en observant la forme de l'otolithe chez une larve de poisson (circulaire) comparée à celle d'un adulte. Outre cela, il a été montré, toujours chez des individus adultes, que l'environnement influence la forme des otolithes (Secor & Dean, 1989; Campana & Casselman, 1993; Anken *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2002; Galley *et al.*, 2006).

Afin de déterminer si la forme des otolithes de juvéniles d'*Oblada melanura* peut servir d'indicateur environnemental, il nous est donc nécessaire de répondre à plusieurs questions préliminaires. Premièrement, compte tenu de l'évolution de la forme de l'otolithe associée à la croissance du poisson, quelle est la taille limite à partir de laquelle la forme de l'otolithe tend à se stabiliser vers celle spécifique de l'adulte, c'est-à-dire la taille à partir de laquelle nous nous débarrassons de l'influence de la croissance sur la forme de l'otolithe ? Une fois cette taille limite déterminée, est-il possible de différencier deux sites proches, les différences de formes entre sites éloignés étant connues chez l'adulte (Campana & Casselman, 1993; Smith *et al.*, 2002; Tracey *et al.*, 2006; Javor *et al.*, 2011; Bacha *et al.*, 2014, 2016), mais avec des conditions environnementales différentes ("préservé" contre "port de plaisance") ? Enfin, si une différence de forme existe quand nous comparons les deux sites, quels paramètres devons-nous prendre en compte pour interpréter correctement les résultats ?

En parallèle, et étant donné que pour une taille de poisson déterminée la taille de l'otolithe varie en fonction de la vitesse de croissance de l'individu (Oozeki & Watanabe, 2000; Strelcheck *et al.*, 2003; Campana, 2005), et que cette vitesse peut être influencée par l'environnement (Campana & Casselman, 1993), nous chercherons à savoir si le ratio entre la surface de l'otolithe et la longueur standard du poisson, peut être un complément de l'analyse de forme, un indicateur pertinent.

III.C.1.a - Echantillons utilisés

Au cours des étés 2013, 2014 et 2015, deux sites ont été échantillonnés sur les côtes françaises de la Méditerranée occidentale. Ces deux sites sont proches (séparés par 2,3 km) et présentent des conditions environnementales différentes. Le premier, que nous nommerons A (site A de la zone 3 initialement présentée), a été choisi, en fonction des courants, pour ne présenter aucune source de pollution identifiée à proximité. Le second, que nous nommerons B (site C de la zone 3 initialement présentée), est situé à proximité de la sortie d'un port de plaisance. Les échantillons collectés sont présentés dans la Table 3-9.

Table 3-9 : Echantillons utilisés pour l'étude de l'influence de la croissance sur la forme de l'otolithe chez *O. melanura*.

Site	A						B			
Echantillon	1		2		3		1		2	
Année	Date	N	Date	N	Date	N	Date	N	Date	N
2013	10/07	46	24/07	51	30/07	35				
2014	23/06	81	03/07	61			23/06	55	03/07	64
2015	25/06	74	30/06	34			25/06	62	30/06	34

Chaque année, le premier échantillonnage a eu lieu une semaine après la première observation d'*O. melanura* au site A. En 2013, seul le site A a été échantillonné lors d'un travail préliminaire. 597 poissons ont été analysés pour ce travail.

III.C.1.b - Analyses et statistiques

Les contours des otolithes droits ont été obtenus à l'aide du module "ChainCoder" du logiciel SHAPE (Iwata & Ukai, 2002) et sauvés sous la forme de chaînes de code (Freeman, 1974). Ils ont alors été utilisés comme base pour la réalisation d'une analyse elliptique de Fourier (Giardina & Kuhl, 1977; Kuhl & Giardina, 1982) réalisée sous R à l'aide du package "Momocs" de Vincent Bonhome (Bonhomme *et al.*, 2014). 12 harmoniques ont été utilisées afin de décrire en moyenne 99% de la forme (Campana & Casselman, 1993). Du fait de la standardisation, les constantes a, b et c de la première harmonique ont des valeurs spécifiques (a_1=1, b_1=0, c_1=0).

Comme indiqué plus haut, la vitesse de croissance d'un poisson, sa longueur standard (LS) et la taille de ses otolithes sont liées (Oozeki & Watanabe, 2000; Strelcheck *et al.*, 2003; Campana, 2005). Il a été démontré qu'un individu de taille déterminé présentera de plus petits otolithes s'il a eu une croissance rapide que s'il a eu une croissance lente. Nous avons donc aussi mesuré l'aire de l'otolithe et calculé le ratio :

$$\mathrm{AL} = \sqrt{\mathrm{Aire}}/\mathrm{LS}$$

La comparaison des groupes de poissons a été effectuée à l'aide de l'analyse en composante principale (ACP), de l'analyse de variance (ANOVA) et du test post-hoc des différences significatives honnêtes HSD de Tukey, ou de l'analyse canonique des coordonnées principales (CAP). Pour rappel, la CAP est une analyse contrainte (*constrained ordination*) avec des groupes connus *a priori*. La validation croisée (*cross validation*) effectuée à l'aide du succès d'allocation au test *Leave one out* donne une mesure raisonnable et non biaisée de la distinction entre les groupes (Anderson & Willis, 2003; Tracey *et al.*, 2006; Anderson *et al.*, 2008). La CAP a été réalisée (après élimination de la première harmonique du fait de la standardisation), sur les distances euclidiennes entre les individus, avec 9999 permutations

non contraintes des données brutes (Anderson, 2001). ACP, ANOVA et HSD ont été réalisés sous R (V 3.3.0), les CAP ont été calculées sous PRIMER 6.

III.C.1.c - Résultats

Détermination de la taille minimale de l'oblade

Afin d'être capable de réaliser des comparaisons de formes d'otolithes pertinentes, il est nécessaire de déterminer une taille limite de poisson à partir de laquelle la forme se stabilise vers celle de l'adulte, comme le montre cette illustration d'otolithes (*sagittae*) d'*O. melanura* classés par ordre de LS des poissons (Figure 3-25).

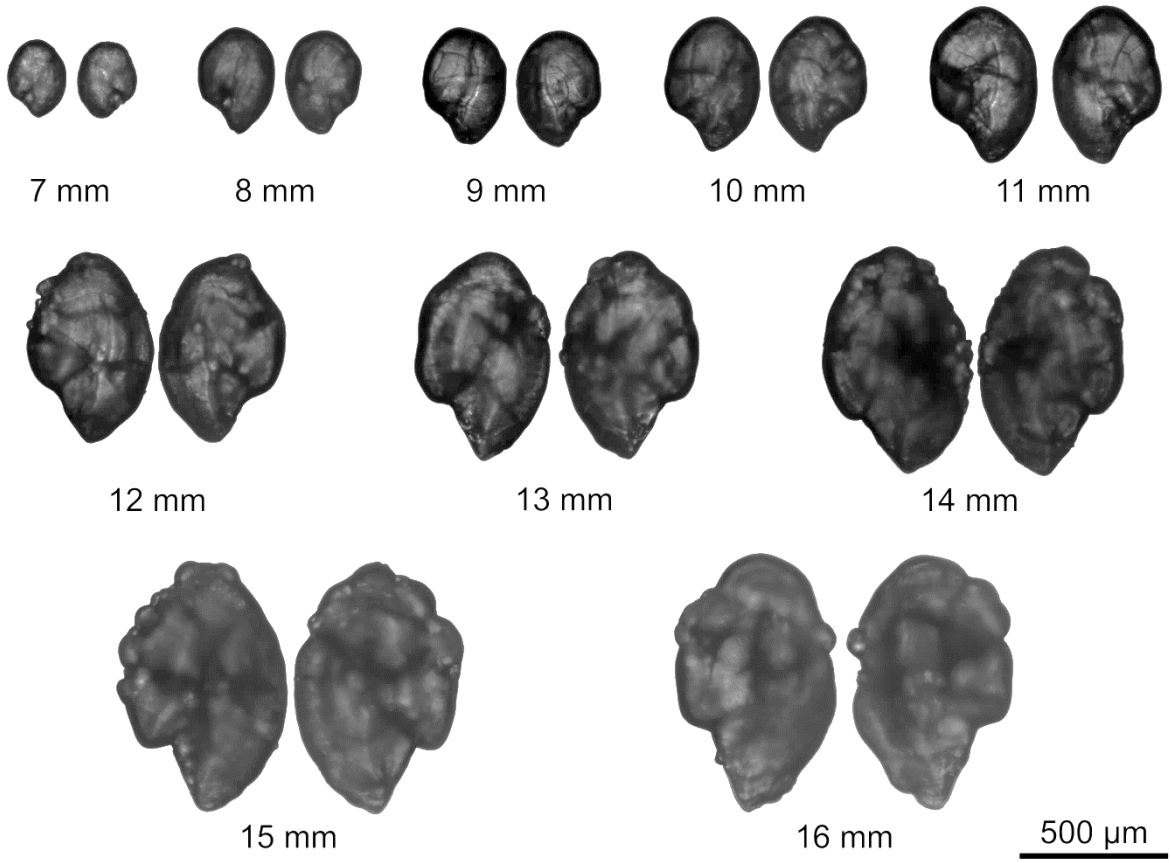


Figure 3-25 : Photographie représentative de paires de *sagittae* d'*Oblada melanura* classées par ordre de taille des poissons (mm).

Nous observons sur cette figure que la forme de l'otolithe évolue avec la croissance du poisson, d'une forme "ronde" et lisse à une forme adulte, ici "en fuseau", au contour accidenté.

Afin de déterminer si les oblades d'une même année sont différentes du point de vue de la LS et de l'aire de l'otolithe, une ANOVA à un facteur (date d'échantillonnage) a été utilisée (Table 3-10 ; valeurs moyennes pour chaque échantillon à l'Annexe VI) pour ces comparaisons.

Table 3-10: *Oblada melanura*, table de résultat d'ANOVA, LS et aire d'otolithes droits par dates d'échantillonnage et par années.
Pour 2014 et 2015, les sites A et B ont été regroupés pour chaque date. Niveau de significativité : "***" p<0,001.

Longueur standard					Aire				
2013	**ddl**	**F**	**p**		**2013**	**Ddl**	**F**	**p**	
Dates	2	55,27	<2e-16	***	**Dates**	2	28,62	2,76e-11	***
Résidus	156				**Résidus**	153			
2014	**ddl**	**F**	**p**		**2014**	**Ddl**	**F**	**p**	
Dates	1	126,4	<2e-16	***	**Dates**	1	337,4	<2e-16	***
Résidus	140				**Résidus**	139			
2015	**ddl**	**F**	**p**		**2015**	**Ddl**	**F**	**p**	
Dates	1	35,10	3,94e-8	***	**Dates**	1	56,120	2,15e-11	***
Résidus	106				**Résidus**	106			

Pour chacune des années, il apparaît que la LS des poissons ainsi que l'aire des otolithes sont significativement différentes entre dates d'échantillonnage (Table 3-10) et qu'elle croît avec le temps (données complètes à l'Annexe VI).

A la vue de ces résultats, nous avons cherché à savoir si, pour une même date d'échantillonnage, les poissons des différents types de sites présentaient des valeurs similaires de LS et d'aire d'otolithes (Table 3-11).

Table 3-11 : *Oblada melanura*, table de résultat d'ANOVA, LS et aire d'otolithes par types et par échantillonnages successifs chaque année.
Niveau de significativité : "*" p<0,05.

Premier échantillonnage									
Longueur standard					Aire				
2014	**ddl**	**F**	**p**		**2014**	**ddl**	**F**	**p**	
Types	1	1,696	0,195		**Types**	1	0,691	0,407	
Résidus	134				**Résidus**	134			
2015	**ddl**	**F**	**p**		**2015**	**ddl**	**F**	**p**	
Types	1	1,495	0,224		**Types**	1	5,028	0,027	*
Résidus	134				**Résidus**	134			
Second échantillonnage									
2014	**ddl**	**F**	**p**		**2014**	**ddl**	**F**	**p**	
Types	1	6,336	0,013	*	**Types**	1	4,099	0,045	*
Résidus	123				**Résidus**	123			
2015	**ddl**	**F**	**p**		**2015**	**ddl**	**F**	**p**	
Types	1	0,436	0,511		**Types**	1	1,621	0,207	
Résidus	66				**Résidus**	66			

Concernant ces comparaisons entre types, pour les premiers échantillons (prélevés chaque années 7 jours après la première observation d'*O. melanura* au site A) aucune différence significative n'existe pour la LS en 2014 comme en 2015 ni pour l'aire en 2014, une différence significative existe pour l'aire en 2015. Plusieurs jours plus tard (10 en 2014 et 5 en 2015),

pour le second échantillonnage, des différences significatives existent pour la LS et l'aire en 2014 mais aucune en 2015.

Les différences de tailles entre oblades d'échantillonnages successifs confirment la nécessité de déterminer une limite inférieure de taille pour effectuer des comparaisons de formes des otolithes entre sites, dates ou années d'échantillonnages. Afin de déterminer cette limite, nous avons réalisé une ACP des descripteurs de formes mesurées en incluant l'ensemble des 597 poissons collectés en 2013, 2014 et 2015 (Table 3-12).

Table 3-12 : *Oblada melanura*, table de résultat d'ACP réalisée sur les descripteurs de forme de l'ensemble des échantillons de 2013, 2014 et 2015.

	PC1	PC2	PC3	PC4
Ecart-type	3,49%	1,38%	1,23%	1,06%
Proportion de variance	55,15%	8,58%	6,90%	5,11%
Proportion cumulée	55,15%	63,73%	70,64%	75,75%

Dans cette ACP, 55,15% de la variation totale est expliquée par la première composante principale (PC1), les suivantes représentant individuellement moins de 10%. La projection des individus selon les axes PC1 et PC2 (qui expliquent ensemble 63,73% de la variation totale) avec une superposition de l'information des groupes de LS constitués avec un pas de 0,5 mm (de <8,5 à 17-17,5 mm) est présentée dans la Figure 3-26.

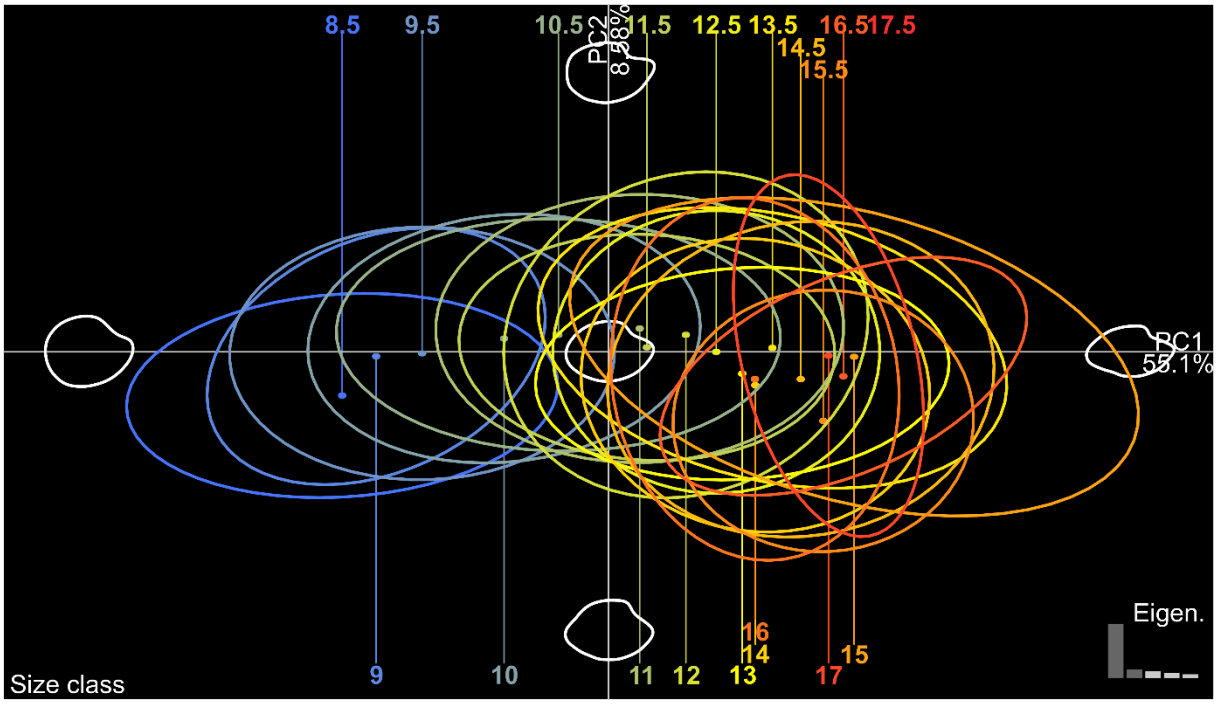


Figure 3-26 : *Oblada melanura*, ACP, projection des 597 individus groupés par longueurs standard (mm).
ACP réalisée sur les constantes des 12 premières harmoniques. Projection des individus sur les axes PC1 et PC2. Ellipses : intervalle de confiance à 95% du nuage de points centré autour du centroïde du groupe ; les couleurs correspondent aux classes de tailles ; forme d'otolithes : formes extrêmes associées aux axes. Classes de tailles de 0,5 mm de <8,5 (8.5) à 17-17,5 (17.5). Notons que le groupe 17.5 n'est constitué que de 2 individus.

Il apparaît que les groupes de tailles sont bien séparés le long de l'axe PC1, les plus petits individus étant associés aux valeurs négatives de cet axe (forme "ronde") et les plus grands aux valeurs positives (forme "en fuseau"). Sur cette Figure 3-26, il semble que pour les groupes de LS supérieures à 11 mm les centroïdes se rapprochent.

Une comparaison des groupes de tailles à l'aide d'une ANOVA à un facteur sur PC1 (donnée à l'Annexe VI) révèle des différences très significatives entre les groupes ($F_{18,578}$=66,54 ; p<2,00E-16). Le test post-hoc HSD de Tukey indique que pour LS > 12 mm il n'y a pas de différence entre les groupes à une exception près (]12 ;12.5] *vs.*]14.5 ;15], p=0,014), et que les différences sont plus faibles pour des LS de]10.5 ; 11],]11 ;11.5] et]11.5 ;12] que pour des LS inférieures. Du fait de cette observation, nous avons choisis de travailler sur des poissons de LS ≥ 11 mm, cette taille semblant être l'extrême limite. Malgré l'utilisation de cette limite étendue, seuls 6 poissons sont inclus pour les échantillons du 23 juin 2014 (2 pour le site A et 4 pour le site B), les résultats pour cette date seront dont à considérer avec précaution. Avec cette limite de 11 mm de LS, nous avons réalisé en parallèle les comparaisons avec le calcul d'AL et avec l'étude de la forme des otolithes.

Comparaison inter sites par dates d'échantillonnage

Comme principale application pratique, nous avons comparé les deux sites (A et B) pour chaque date de 2014 et de 2015. Pour cela nous avons réalisé une CAP avec les sites comme groupes *a priori* (Table 3-13, Figure 3-27) et une ANOVA sur les données d'AL (données à l'Annexe VI).

Table 3-13: *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les sites comme groupes *a priori*, par dates d'échantillonnage. Harmoniques 2 à 12 utilisées ; poissons inclus : SL ≥ 11 mm. A : site A ; B : site B. m : nombre d'axes "*principal component ordination*" (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation.
Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué.

		23/06/2014	03/07/2014	25/06/2015	30/06/2015
m		2	21	42	11
N	**A**	2	43	60	30
	B	4	51	47	33
Variation		72,50%	97,84%	>99,99%	87,58%
Groupes		2	2	2	2
Seuil		50,00%	50,00%	50,00%	50,00%
Succès d'allocation	**Total**	33,33%	63,83%	61,68%	73,02%
	A	50,00%	65,12%	63,33%	83,33%
	B	25,00%	62,75%	59,57%	63,64%
δ^2		0,232	0,368	0,474	0,416
p		0,7316	0,0150	0,1125	0,0004

Validation croisée

23/06/2014	A	B
A	1	1
B	3	1

03/07/2014	A	B
A	28	15
B	19	32

25/06/2015	A	B
A	38	22
B	19	28

30/06/2015	A	B
A	25	5
B	12	21

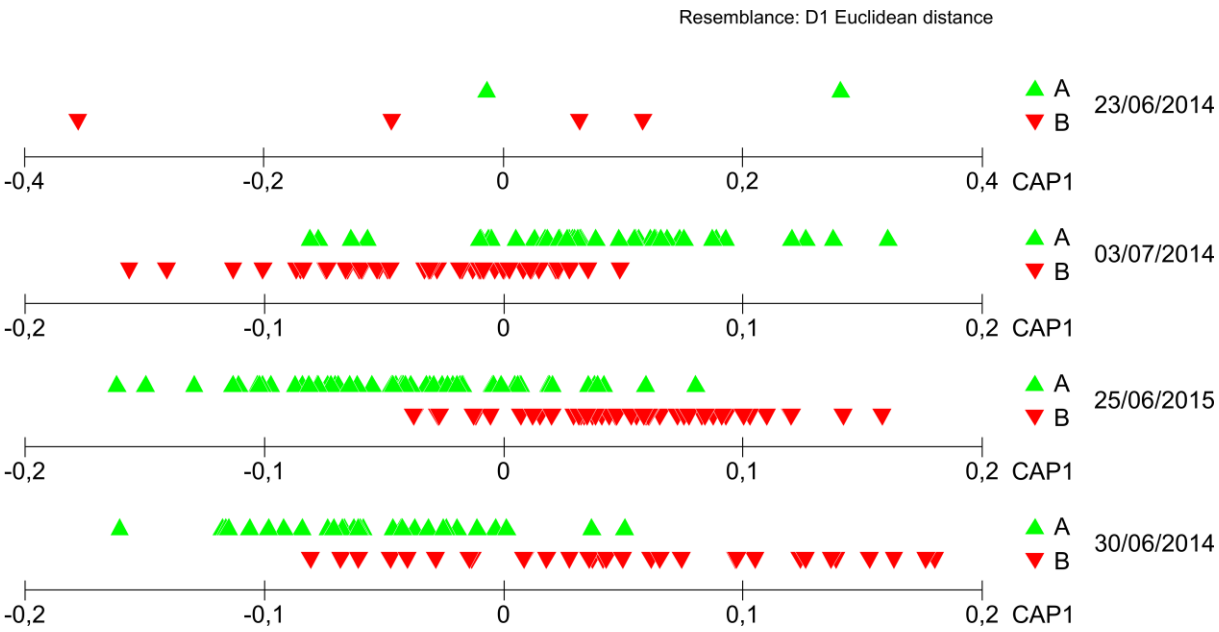


Figure 3-27 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les sites comme groupes *a priori*, par dates d'échantillonnage. Harmoniques 2 à 12 utilisées ; poissons inclus : SL ≥ 11 mm. A : site A ; B : site B.

Les comparaisons de formes entre sites, par date d'échantillonnage, révèlent une évolution dans le temps au cours de chacune des deux années, d'une absence de différence lors du premier prélèvement (réalisé une semaine après la première observation d'individus au site A), à des différences significatives lors du second prélèvement.

Sur les mêmes échantillons, les résultats d'ANOVA sur les données d'AL sont moins clairs (donnés à l'Annexe VI) : en 2014 des différences significatives existent entre sites pour le premier prélèvement (à considérer avec précaution, 6 individus) mais pas pour le second, en 2015 les deux prélèvements présentent des différences significatives entre sites (06-25 : $F_{1,105}$=43,09, p<2,2E-16 ; 06-30 : $F_{1,61}$=8,978, p=0,004).

Comparaison inter dates par années

Vu les résultats ci-dessus, nous sommes arrivés à émettre l'hypothèse que, bien que nous nous soyons débarrassés de l'effet de la croissance des poissons (en travaillant sur des individus de LS ≥ 11 mm), l'information associée aux dates d'échantillonnage, donc au temps passé par le poisson dans le site, doit être prise en compte. Afin de tester l'importance du temps de résidence des individus sur le site, nous avons effectué des comparaisons entre dates de prélèvement, pour chacune des années étudiées, à la fois pour la forme des otolithes (Table 3-14, Figure 3-28) et pour l'AL (données à l'Annexe VI).

Table 3-14 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les dates de prélèvement comme groupes *a priori*, par années. Pour 2014 et 2015, les individus des deux sites A et B ont été groupés pour chacune des dates. Harmoniques 2 à 12 utilisées ; poissons inclus : SL ≥ 11 mm. . S. 1, S. 2, S. 3 : 1ère, 2ème et 3ème date de prélèvement. m : nombre d'axes "*principal component ordination*" (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation.

Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué.

		2013	2014	2015
m		15	31	11
N	**S. 1**	11	6	107
	S. 2	39	94	63
	S. 3	35		
Variation		92,13%	99,77%	84,79%
Groupes		3	2	2
Seuil		33,33%	50,00%	50,00%
Succès d'allocation	**Total**	74,12%	97,00%	82,35%
	S. 1	90,91%	83,33%	84,11%
	S. 2	74,36%	97,87%	79,37%
	S. 3	68,57%		
δ^2		0,692	0,570	0,467
p		0,0001	0,0023	0,0001

Validation croisée

2013	**S. 1**	**S. 2**	**S. 3**
S. 1	10	1	0
S. 2	3	29	7
S. 3	2	9	24

2014	**S. 1**	**S. 2**	**Total**
S. 1	5	1	6
S. 2	2	92	94

2015	**S. 1**	**S. 2**	**Total**
S. 1	90	17	107
S. 2	13	50	63

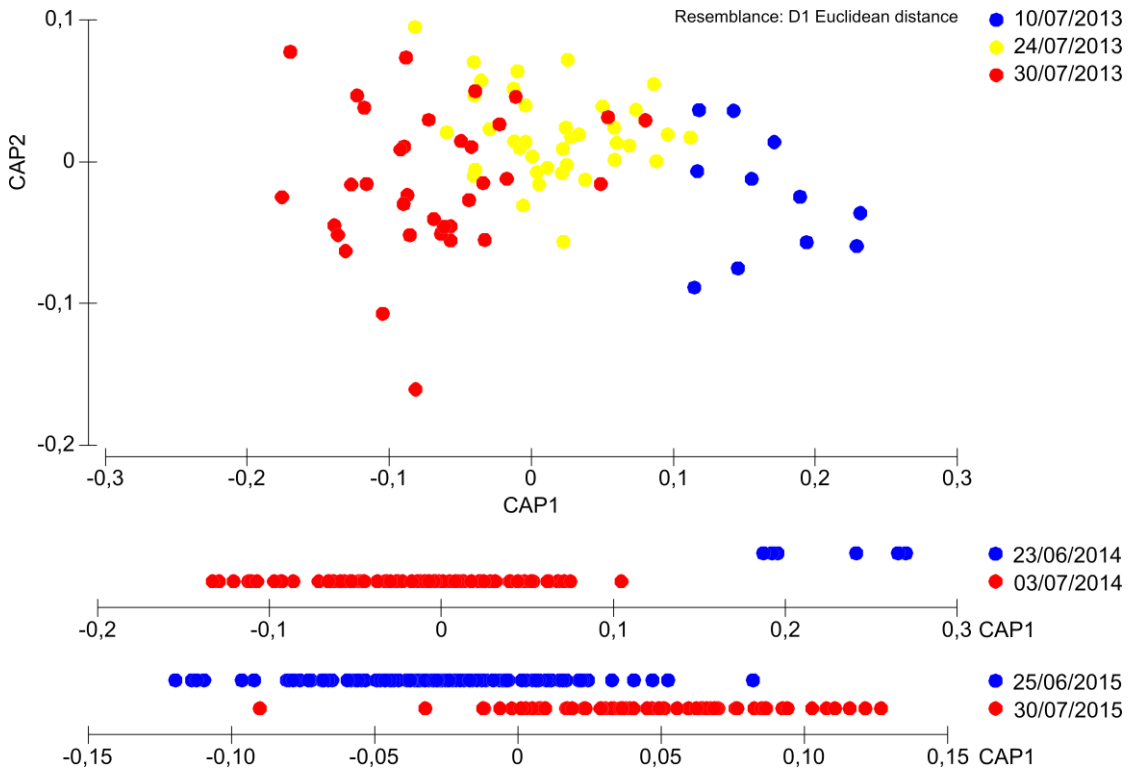


Figure 3-28 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les dates de prélèvement comme groupes *a priori*, par années. Pour 2014 et 2015, les individus des deux sites A et B ont été groupés pour chacune des dates. Harmoniques 2 à 12 utilisées ; poissons inclus : SL ≥ 11 mm.

Les comparaisons de formes réalisées à l'aide de la CAP mettent en évidence des différences significatives entre les dates de prélèvement pour chacune des années. Ces différences peuvent être retrouvées sur les représentations des contours moyens des otolithes correspondant aux différentes dates de prélèvement (Figure 3-29). L'évolution de la forme observable sur ces contours moyens correspond d'ailleurs à celle observée en liaison avec la longueur standard des poissons.

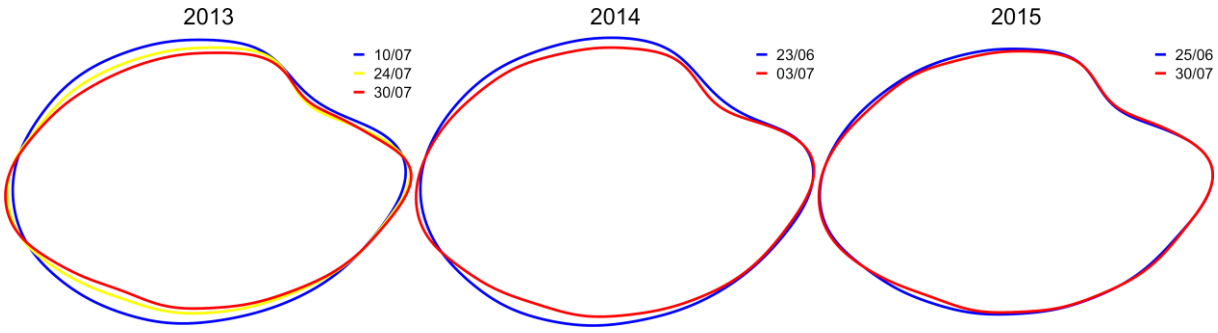


Figure 3-29 : *Oblada melanura*, superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes dates de prélèvement.
Les 12 premières harmoniques ont été utilisées.

En revanche, les comparaisons d'AL à l'aide d'ANOVA (données à l'Annexe VI) donnent des résultats peu clairs, avec une absence de différence entre les prélèvements de 2013 et des

différences significatives pour 2014 et 2015 (2014 : $F_{1,97}$=95,29, p=4,38E-16 ; 2015 : $F_{1,168}$=5,938, p=0,01).

Comparaison inter annuelle

Finalement, considérant que les conditions environnementales peuvent ne pas être strictement identiques d'une année à l'autre, nous avons comparé les échantillons des différentes années entre eux, du point de vue de la forme des otolithes ainsi que de l'AL (Table 3-15, Figure 3-30 et l'Annexe VI).

Table 3-15 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les années de prélèvement comme groupes *a priori*.
Harmoniques 2 à 12 utilisées ; poissons inclus : SL ≥ 11 mm. m : nombre d'axes "*principal component ordination*" (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation.
Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué.

m		39
N	**2013**	85
	2014	100
	2015	170
Variation		99,91%
Groupes		3
Seuil		33,33%
Succès d'allocation	**Total**	66,48%
	2013	69,41%
	2014	74,00%
	2015	60,59%
δ^2		0,547
p		0,0001

Validation croisée			
	2013	**2014**	**2015**
2013	59	7	19
2014	3	74	23
2015	25	42	103

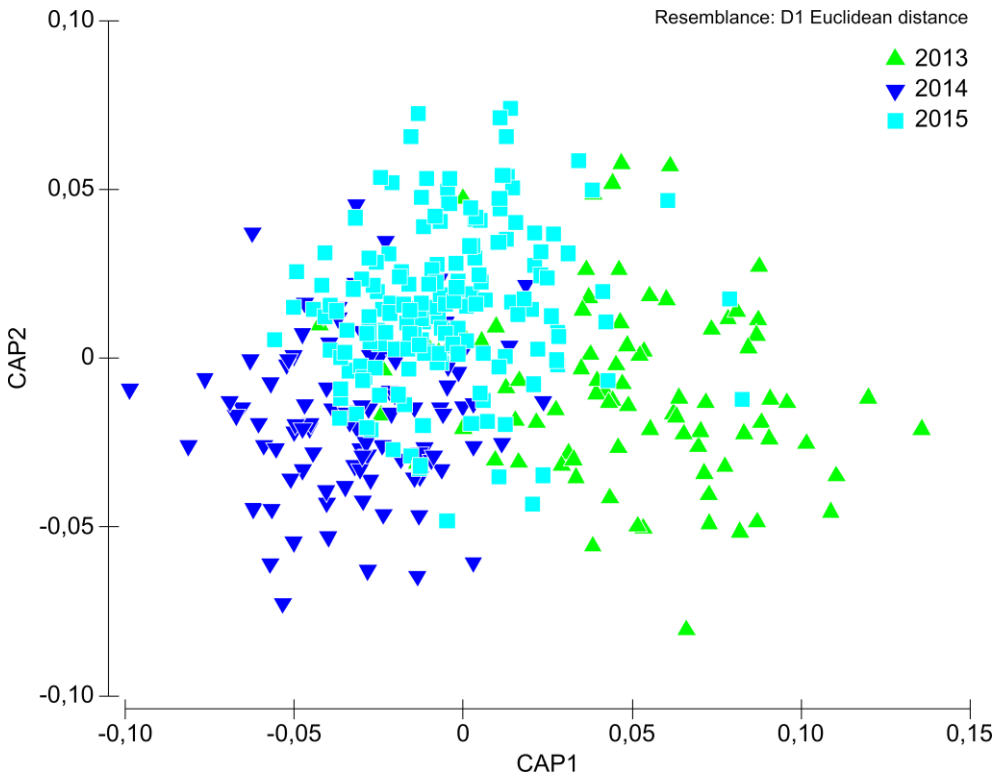


Figure 3-30 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison utilisant les années de prélèvement comme groupes *a priori*. Harmoniques 2 à 12 utilisées ; poissons inclus : SL ≥ 11 mm.

Les comparaisons inter annuelles de la forme des otolithes mettent en évidence des différences significatives entre années d'échantillonnage. Ces différences se retrouvent sur les représentations des contours moyens des otolithes pour chacune des années (Figure 3-31).

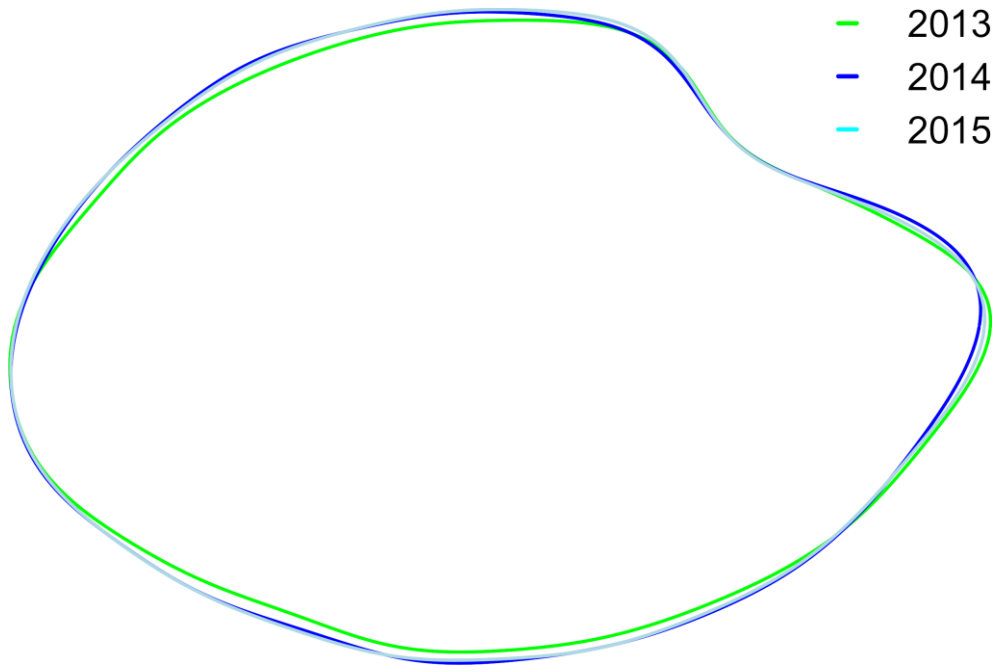


Figure 3-31 : *Oblada melanura,* superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes années de prélèvement.
12 premières harmoniques utilisées.

Cette fois les résultats des comparaisons d'AL donnent des résultats similaires, avec des différences significatives entre chaque année (résultats d'ANOVA et de HSD à l'Annexe VI, $F_{2,376}$=26,01, p=2,64E-11).

III.C.1.d - Interprétation de ces résultats

Nous avons cherché à savoir chez le juvénile d'*Oblada melanura* si la forme des otolithes, ou le ratio entre l'aire de l'otolithe et la longueur standard de l'individu, pouvaient être utilisés comme indicateurs environnementaux sensibles et précoces. Pour répondre à cette question, nous nous sommes intéressés en premier lieu à l'influence de la croissance sur la forme de l'otolithe.

La forme de l'otolithe est connue pour changer avec la croissance et l'âge du poisson (Javor *et al.*, 2011). Notons toutefois que la majorité des données traitant des variations de forme des otolithes proviennent de poissons adultes (Morrow, 1979; Gaemers, 1983; Campana & Casselman, 1993; Begg *et al.*, 2001; García-Gómez *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 2002; Galley *et al.*, 2006; Tracey *et al.*, 2006). Cette transformation de forme est particulièrement remarquable durant le premier mois de la vie du poisson, avec une évolution depuis un *nucleus* "circulaire" à un otolithe dont la forme est caractéristique de l'espèce. Lors de la comparaison d'otolithes de groupes de poissons en période de forte croissance, cette croissance normale peut interférer avec les différences inhérentes aux groupes, voire même les occulter. Nous avons démontré que, lors de la comparaison des formes des otolithes entre groupes de longueur standards (LS), les différences entre groupes tendent à disparaître pour des oblades de LS ≥ 11 mm. Cette disparition des différences entre groupes de tailles indique une stabilisation de la forme de l'otolithe, donc de l'importance de l'influence de la croissance du poisson sur les différences de formes d'otolithes.

D'après la littérature, chez le poisson, la vitesse de croissance, la longueur standard et la taille des otolithes sont liées (Oozeki & Watanabe, 2000; Strelcheck *et al.*, 2003; Campana, 2005). Cette relation peut être décrite comme ceci : pour un individu donné, une croissance rapide conduit à de plus petits otolithes qu'une croissance lente. De fait le ratio d'AL devrait varier en fonction de la vitesse de croissance. De plus, la croissance de l'otolithe dépend des conditions environnementales (Campana & Casselman, 1993). Par conséquent, nous nous attendions à ce que l'AL soit sensible aux différences de conditions environnementales. Cependant les comparaisons de groupes de poissons basées sur l'utilisation de l'AL, bien

qu'ayant montré la possibilité de distinguer différentes années d'échantillonnages, ont conduit à des résultats aléatoires lors des comparaisons entre types de sites et entre dates de prélèvement. Compte tenu de ces résultats, nous pensons que l'AL n'est pas la meilleure, ni la plus fiable, des méthodes pour discriminer deux groupes.

Contrairement à l'AL, lorsque nous travaillons sur des oblades de LS supérieures à la taille limite, la comparaison de formes des otolithes a démontré son efficacité pour discriminer deux échantillons provenant de différents types d'environnements.

Néanmoins, des précautions doivent être prises pour travailler sur des juvéniles, puisque nous avons montré qu'entre 7 et 27 (prélèvement 3 de 2013) jours après l'installation des poissons, la forme des otolithes est fortement influencée par la durée de résidence des poissons sur le même site.

De plus, nos résultats suggèrent qu'une durée de résidence minimale sur le site est nécessaire pour permettre de différencier deux sites et ainsi de potentiellement révéler un effet des conditions environnementales. Pour les juvéniles d'*O. melanura*, cette durée minimale semble être supérieure à 7 jours mais il ne semble pas nécessaire d'attendre plus de 12 jours (des différences ayant été montrées pour un second prélèvement effectué 5 jours après le premier).

La comparaison de forme d'otolithes permet aussi de différencier des groupes de poissons prélevés à différents temps de résidence sur un même site. Les résultats de la Table 3-14 semblent confirmer la nécessité d'un temps de résidence non supérieur à 12 jours, comme suggéré précédemment. Ce type d'exposition à court terme à des conditions environnementales spécifiques n'est pas suffisant pour influencer des poissons adultes (Campana & Casselman, 1993).

Finalement, nous avons effectué une comparaison inter annuelle des formes des otolithes (Table 3-15) qui met en évidence des différences significatives entre années de prélèvement. Ces différences reflètent probablement le fait que les conditions environnementales d'un site ne sont pas strictement identiques d'une année à l'autre.

De part ces résultats, nous avons démontré que la comparaison des formes des otolithes (*sagittae*) de juvéniles d'*O. melanura* est une méthode efficace pour différencier des groupes d'individus exposés à différentes conditions environnementales, comme un site "préservé"

contre un "port de plaisance". De plus, contrairement aux réponses observées chez des poissons adultes (Campana & Casselman, 1993), nous avons observé des différences de formes des otolithes pour une exposition à court terme (quelque jours) des poissons aux environnements testés. Deux conditions sont nécessaires pour utiliser cette méthode. Premièrement, il est nécessaire de déterminer la limite de taille pour que la forme des otolithes se soit stabilisée (LS ≥ 11 mm chez *O. melanura*) et de faire attention à travailler sur des individus de taille supérieure à cette limite. Deuxièmement, il est nécessaire de travailler sur des juvéniles ayant résidé suffisamment longtemps sur le site pour en intégrer les conditions environnementales (pour *O. melanura* cela signifie plus de 7 jours mais il n'est pas nécessaire d'attendre plus de 12 jours).

Cette méthode validée sur *O. melanura* semble prometteuse pour être utilisée sur d'autres espèces à juvéniles sédentaires, et pourrait se révéler un outil intéressant dans le management de l'environnement.

Ces résultats sont présentés dans un article prochainement soumis, intitulé *"Juvenile Oblada melanura (L. 1758) otolith shape variation as an early environmental indicator"*.

III.C.2 - Influence de l'environnement

Suite à la validation de cet indicateur, nous l'avons mis en application pour l'étude d'un cas concret : la détermination de l'impact de ports de plaisance de tailles moyennes bien que différentes, ou de cours d'eau de petite dimension sur la forme de l'otolithe en comparaison avec des sites préservés de ces sources de perturbation du milieu marin.

III.C.2.a - Echantillons utilisés

Au cours des étés 2013, 2014 et 2015, des juvéniles d'oblades de neuf sites ont été échantillonnés. La zone d'échantillonnage a été divisée en trois zones géographiquement définies d'Ouest en Est et de densités de population différentes (Figure 3-3). Chaque zone était délimitée de façon à contenir trois types de sites présentant chacun un type de contamination chimique défini. Les sites de type A ont été sélectionné de façon à garantir leur préservation de l'influence de ports et cours d'eau ainsi que de toute source de pollution identifiée. Les sites de type B correspondent à l'arrivée en Méditerrané de cours d'eau de faible dimension, ils sont connus comme source de contamination principalement en métaux (Fukai *et al.*, 1975; Du Laing *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2014) et sont situés de façon à ne pas être influencés par des zones portuaires. Les sites de type C se situent à proximité de ports de

plaisance où la pollution (McCoy & Johnson, 2010; Mestres *et al.*, 2010) est principalement due aux hydrocarbures (Telli Karakoc *et al.*, 1997) et peintures de bateaux contenant des métaux (Konstantinou & Albanis, 2004; Damiens *et al.*, 2007), ils ne sont pas influencés par des cours d'eau. Dans la zone étudiée, les courants marins circulent d'Est en Ouest (Figure 3-32).

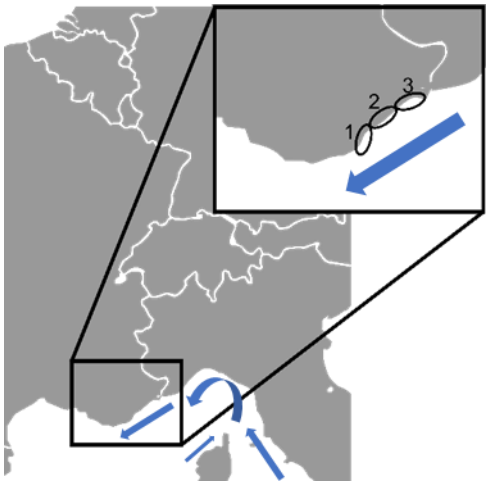


Figure 3-32 : Carte représentant les principaux courants dans l'aire d'étude.
Flèches bleues : courants. 1, 2, 3 : Zones 1, 2, 3.

Sur l'ensemble des prélèvements effectués, ceux séparés de plus de cinq jours pour une même zone n'ont pas été utilisés pour une comparaison afin de limiter l'influence de la croissance sur la forme des otolithes. Au final 515 *O. melanura* de 11 mm et plus de longueur standard (LS) ont donc été analysées pour cette étude (Table 3-16).

Table 3-16 : *Oblada melanura* collectées et ≥ 11 mm conservées pour l'étude de l'influence de l'environnement.

		Type A	Type B	Type C	Date
2013	**Zone 1**	25		32	22/07
			19		26/07
	Zone 2				
	Zone 3	39	23	25	24/07
2014	**Zone 1**	10		18	24/06
	Zone 2	48	36		30/06
				7	01/07
	Zone 3	43		51	03/07
2015	**Zone 1**	8		8	22/06
			19		23/06
	Zone 2				
	Zone 3	60		47	25/06

III.C.2.a - Analyses et statistiques

La méthode d'obtention des données de contour sous la forme de 12 jeux de 4 constantes par poisson, à l'aide de l'analyse elliptique de Fourier, ainsi que l'analyse statistique utilisée sont similaires à celles présentées dans la partie "Chapitre 3 -III -III.C - III.C.1 -Validation de l'analyse de forme des *sagittae* comme indicateur".

Les comparaisons ont ici été réalisées à l'aide uniquement de l'analyse canonique en composantes principales (CAP). De plus, comme nous l'avons démontré précédemment, des différences de forme des otolithes existent entre les années, ce qui implique que chaque année d'échantillonnage sera traitée de manière indépendante.

III.C.2.b - Résultats

Comparaison des zones

En premier lieu, nous avons cherché à savoir s'il existe des différences de formes des otolithes entre les différentes zones échantillonnées. Cette comparaison a été réalisée sur les années 2013 et 2015, les échantillons de 2014 ont été exclus car les prélèvements des différentes zones s'étendaient sur plus de cinq jours. Pour cette CAP, les individus des différents sites de chaque zone ont été regroupés, et les zones ont été utilisées comme groupes *a priori* (Table 3-17, Figure 3-33).

Table 3-17 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des zones de prélèvement tous sites inclus, pour les années 2013 et 2015. m : nombre d'axes "*principal component ordination*" (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation.
Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué.

		2013	2015
m		10	21
N	**Zone 1**	73	35
	Zone 3	87	107
Variation		82,070%	97,260%
Groupes		2	2
Seuil		50%	50%
Succès d'allocation	**Total**	76,250%	77,465%
	Zone 1	76,712%	74,286%
	Zone 3	75,862%	78,505%
δ^2		0,338	0,377
p		<1,00E-4	<1,00E-4

Validation croisée		
2013	**Zone 1**	**Zone 3**
Zone 1	56	17
Zone 3	21	66
2015	**Zone 1**	**Zone 3**
Zone 1	26	9
Zone 3	23	84

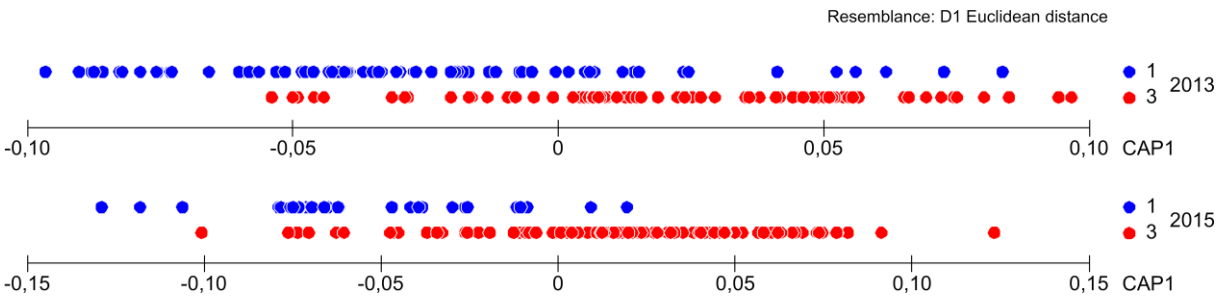


Figure 3-33 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des zones de prélèvement tous sites inclus, pour les années 2013 et 2015.
1 : zone 1 (bleu) ; 3 : zone 3 (rouge).

La CAP met en évidence des différences de forme significatives entre les zones 1 et 3, la validation croisée différenciant clairement les deux zones. Par ces résultats reproductibles sur les deux années nous avons montré l'existence d'une différence de forme significative entre les deux zones les plus distantes, c'est-à-dire séparées de 20 km. Les représentations des contours moyens des otolithes des poissons prélevés dans les zones 1 et 3 lors des prélèvements de 2013 et 2015 permettent d'identifier des variations sur le contour de ces otolithes (Figure 3-34).

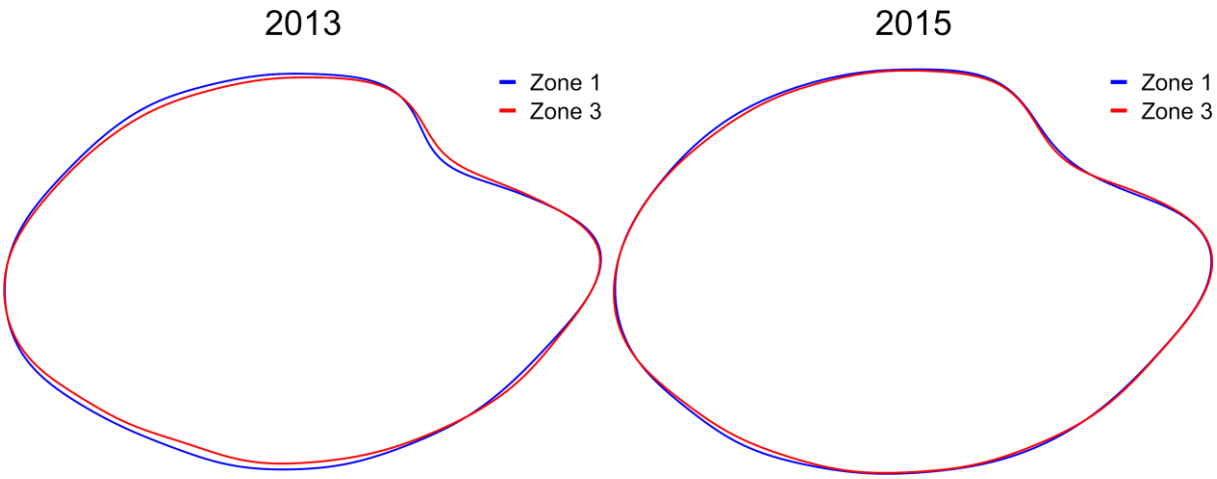


Figure 3-34 : *Oblada melanura*, superposition des contours moyens des otolithes pour les différentes zones de prélèvement en 2013 et 2015.
12 premières harmoniques utilisées. 1 : zone 1 (bleu) ; 3 : zone 3 (rouge).

Comparaison des types

Nous avons ensuite comparé, en 2013 et 2015, les formes des otolithes en relation avec les types de sites, en incluant l'ensemble des individus des différentes zones pour chaque type. L'année 2014 est exclue pour la même raisons que lors des comparaisons des différentes zones. Pour cette CAP, les types de sites ont été utilisés comme groupes *a priori* (Table 3-18).

Table 3-18 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des types de sites toutes zones incluses, pour les années 2013 et 2015.
m : nombre d'axes "*principal component ordination*" (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation

attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation.
Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué.

		2013	2015
m		43	19
N	**Type A**	63	68
	Type B	41	19
	Type C	56	55
Variation		99,990%	96,210%
Groupes		3	3
Seuil		33,333%	33,333%
Succès d'allocation	**Total**	46,250%	47,183%
	Type A	42,857%	38,235%
	Type B	51,220%	56,364%
	Type C	46,429%	52,632%
δ^2		0,398	0,298
p		3,62E-2	2,80E-3

Validation croisée			
2013	**Type A**	**Type B**	**Type C**
Type A	27	19	17
Type B	9	21	11
Type C	20	10	26

2015	**Type A**	**Type B**	**Type C**
Type A	26	16	26
Type B	6	10	3
Type C	16	8	31

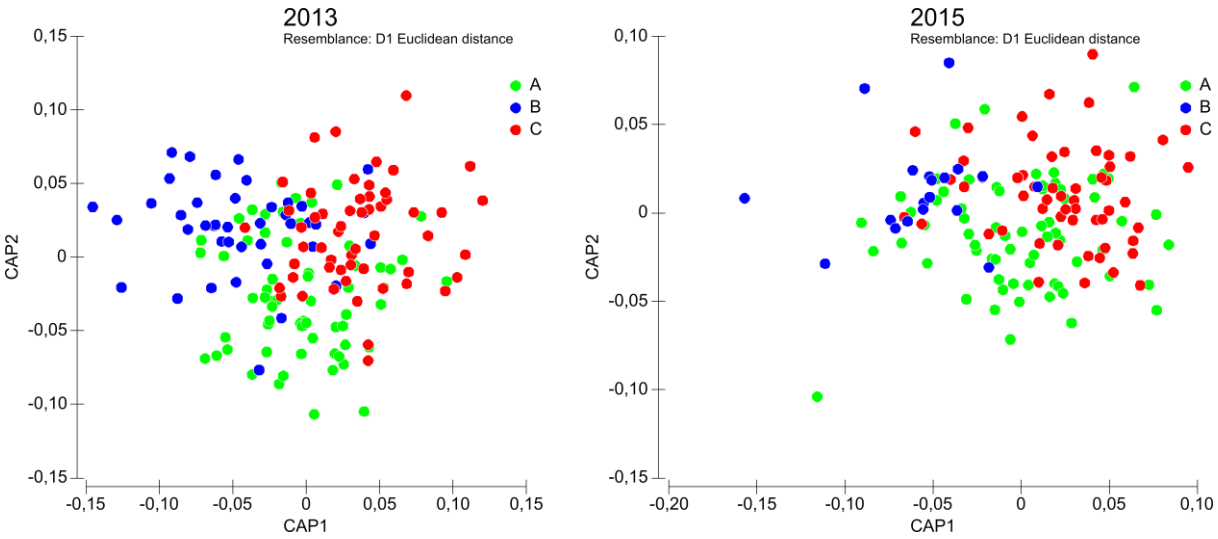


Figure 3-35 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des types de sites toutes zones incluses, pour les années 2013 et 2015. A : type A (vert) ; B : type B (bleu) ; C : type C (rouge).

Cette analyse met en évidence des différences significatives de forme entre tous les types pour chacune des années étudiées. La validation croisée ne permet toutefois pas de séparer parfaitement les trois types de sites. Il en va de même pour la superposition des contours moyens des otolithes des poissons prélevés dans chaque type de sites pour ces deux années (Figure 2-31).

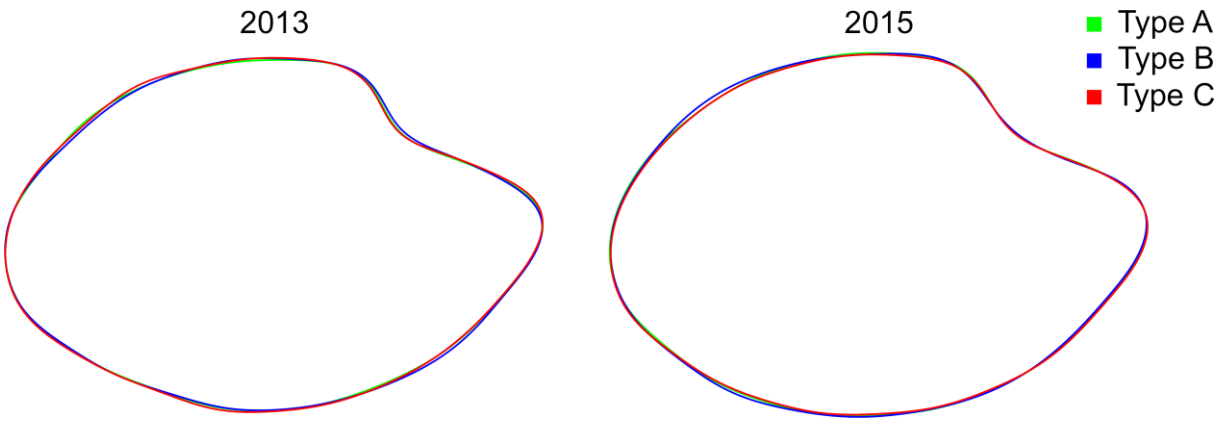


Figure 3-36 : *Oblada melanura,* superposition des contours moyens des otolithes pour les différents types de sites toutes zones incluses, pour les années 2013 et 2015.
12 premières harmoniques utilisées. Vert : Type A ; bleu : Type B ; rouge : Type C.

Comparaisons des zones par types

Nous venons de démontrer que la forme des otolithes varie entre les zones ainsi qu'entre les types de sites lorsque tous les individus sont inclus. Ces résultats nous ont amené à vérifier si ces différences persistent entre les zones pour un type de site spécifique. Nous avons donc comparé pour chacun des types les différentes zones entre elles, pour les années 2013 et 2015, en utilisant les zones comme groupes *a priori* pour cette CAP (Table 3-19, Figure 3-37).

Table 3-19 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des zones par types de sites, pour les années 2013 et 2015.
m : nombre d'axes "*principal component ordination*" (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation.
Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué.

		2013			2015	
		Type A	Type B	Type C	Type A	Type C
m		11	15	26	36	23
N	Zone 1	24	18	31	8	8
	Zone 3	39	23	25	60	47
Variation		86,940%	95,680%	98,870%	99,960%	98,920%
Groupes		2	2	2	2	2
Seuil		50%	50%	50%	50%	50%
Succès d'allocation	Total	85,714%	78,049%	83,929%	85,294%	74,545%
	Zone 1	84,615%	78,261%	88,000%	88,333%	78,723%
	Zone 3	87,500%	77,778%	80,645%	62,500%	50,000%
δ^2		0,590	0,579	0,820	0,650	0,481
p		1,00E-4	2,69E-2	2,00E-4	0,111	0,283

Validation croisée

2013			2015		
Type A	Zone 1	Zone 3	Type A	Zone 1	Zone 3
Zone 1	21	3	Zone 1	5	3
Zone 3	6	33	Zone 3	7	53

Type B	Zone 1	Zone 3
Zone 1	14	4
Zone 3	5	18

Type C	Zone 1	Zone 3	Type C	Zone 1	Zone 3
Zone 1	25	6	Zone 1	4	4
Zone 3	3	22	Zone 3	10	37

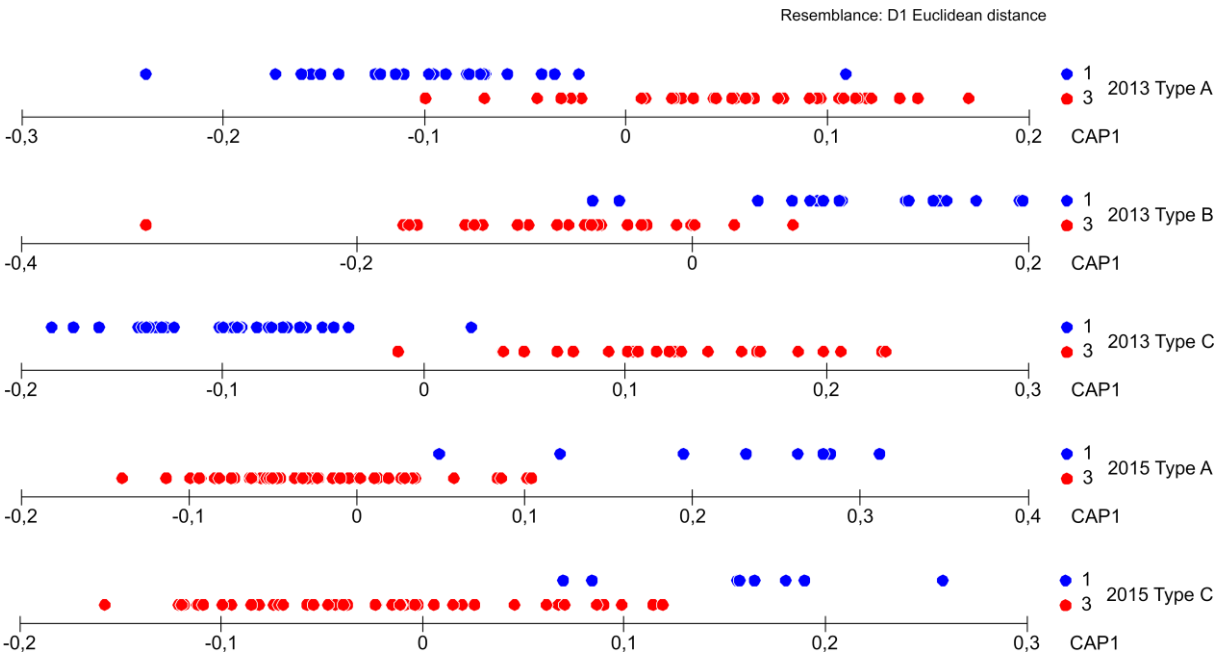


Figure 3-37 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des zones par types de sites, pour les années 2013 et 2015.
1 : zone 1 (bleu) ; 3 : zone 3 (rouge).

Les résultats de cette CAP soulignent la présence de différences significatives de formes d'otolithes entres les zones 1 et 3 pour chacun des types de sites en 2013. En 2015, aucune différence ne semble exister entre les zones, cependant les valeurs de succès d'allocation doivent ici être mises en perspective avec les résultats de validation croisée et l'attribution des individus à chaque groupe. L'observation des contours moyens des otolithes par sites par années est présentée au point suivant (Figure 3-39).

Comparaison des types par zones

De manière similaire aux comparaisons de zones par types, nous avons comparé les types de sites entre eux pour chacune des zones. Cette fois, en plus des années 2013 et 2015, l'année 2014 a pu être incluse. Cette comparaison a été effectuée en utilisant les types de sites comme groupes *a priori* (Table 3-20).

Table 3-20 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des types de sites par zones, pour les années 2013, 2014 et 2015.
m : nombre d'axes "*principal component ordination*" (PCO) utilisés pour l'analyse ; Variation : proportion de la variation expliquée par les m premiers axes PCO ; Groupes : nombres de groupes utilisés dans l'analyse ; Seuil : succès d'allocation attendu du fait du hasard ; Succès d'allocation : proportion des individus d'un groupe correctement attribué à ce groupe ; δ^2 : carré de la corrélation canonique ; p : p-value du test de permutation.
Validation croisée : allocation, par le test *Leave one out*, des observations aux groupes ; ligne : groupe d'origine ; colonne : groupe attribué.

		2013		2014			2015	
		Zone 1	Zone 3	Zone 1	Zone 2	Zone 3	Zone 1	Zone 3
m		36	27	9	26	18	23	11
N	**Type A**	24	39	10	48	43	8	60
	Type B	18	23		36		19	
	Type C	31	25	18	7	51	8	47
Variation		99,840%	98,490%	90,780%	99,250%	96,370%	99,670%	86,560%
Groupes		3	3	2	3	2	3	2
Seuil		33,333%	33,333%	50%	33,333%	50%	33,333%	50%
Succès d'allocation	**Total**	47,945%	57,471%	53,571%	60,440%	62,766%	45,714%	59,813%
	Type A	45,833%	56,410%	20%	62,500%	62,791%	50%	61,667%
	Type B	50%	47,826%		58,333%		42,105%	
	Type C	48,387%	68%	72,222%	57,143%	62,745%	50%	57,447%
δ^2		0,693	0,621	0,433	0,529	0,304	0,799	0,135
p		1,94E-1	3,00E-4	2,03E-1	5,80E-3	3,28E-2	4,09E-1	1,98E-1

Validation croisée

2013

Zone 1	**Type A**	**Type B**	**Type C**
Type A	11	3	10
Type B	4	9	5
Type C	10	6	15

Zone 3	**Type A**	**Type B**	**Type C**
Type A	22	10	7
Type B	10	11	2
Type C	5	3	17

2014

Zone 1	**Type A**		**Type C**
Type A	2		8
Type C	5		13

Zone 2	**Type A**	**Type B**	**Type C**
Type A	30	13	5
Type B	11	21	4
Type C	1	2	4

Zone 3	**Type A**		**Type C**
Type A	27		16
Type C	19		32

2015

Zone 1	**Type A**	**Type B**	**Type C**
Type A	4	3	1
Type B	7	8	4
Type C	2	2	4

Zone 3	**Type A**	**Type C**
Type A	37	23
Type C	20	27

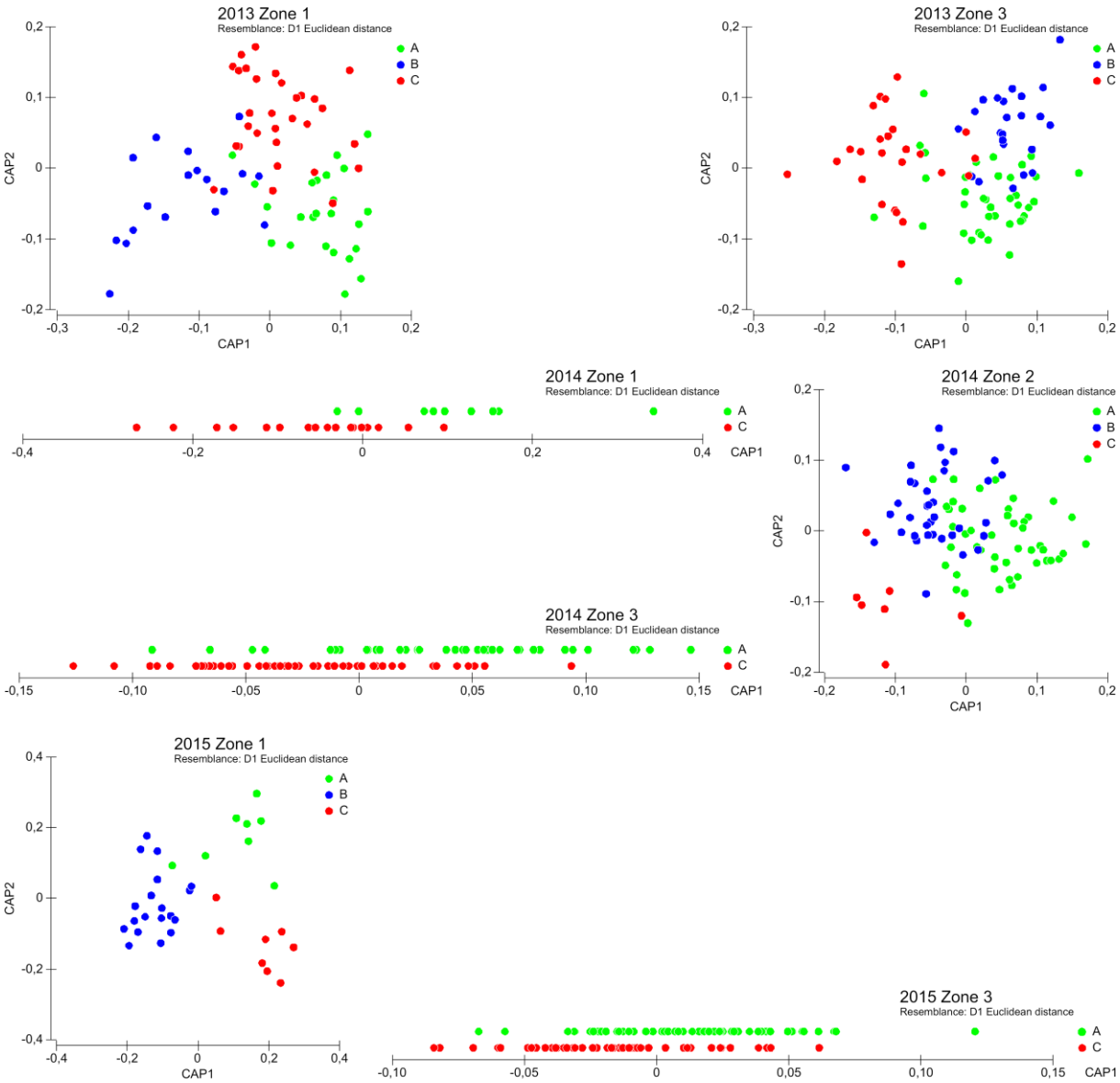


Figure 3-38 : *Oblada melanura*, CAP, comparaison des types de sites par zones, pour les années 2013, 2014 et 2015. A : type A (vert) ; B : type B (bleu) ; C : type C (rouge).

La CAP permet ici de détecter des différences significatives entre les types en 2013 et 2014 pour la zone 3, mais pas pour la zone 1. De plus, elle souligne une différence significative pour la zone 2 en 2014. Concernant l'année 2015, aucune différence ne semble ressortir. Si nous observons les résultats de validation croisée, il est intéressant de noter pour la zone 3 en 2013 et la zone 2 en 2014 (où tous les types sont représentés), que les erreurs de classement des individus provenant des sites de type A se font majoritairement en faveur des sites de type B (2013 : 10 A dans B sur 17 erreurs ; 2014 : 13 A dans B sur 18 erreurs) et inversement (2013 : 10 B dans A sur 12 erreurs ; 2014 : 11 B dans A sur 15 erreurs). L'observation des contours moyens des otolithes pour chacun des sites en 2013, 2014 et 2015 confirme ces résultats (Figure 3-39).

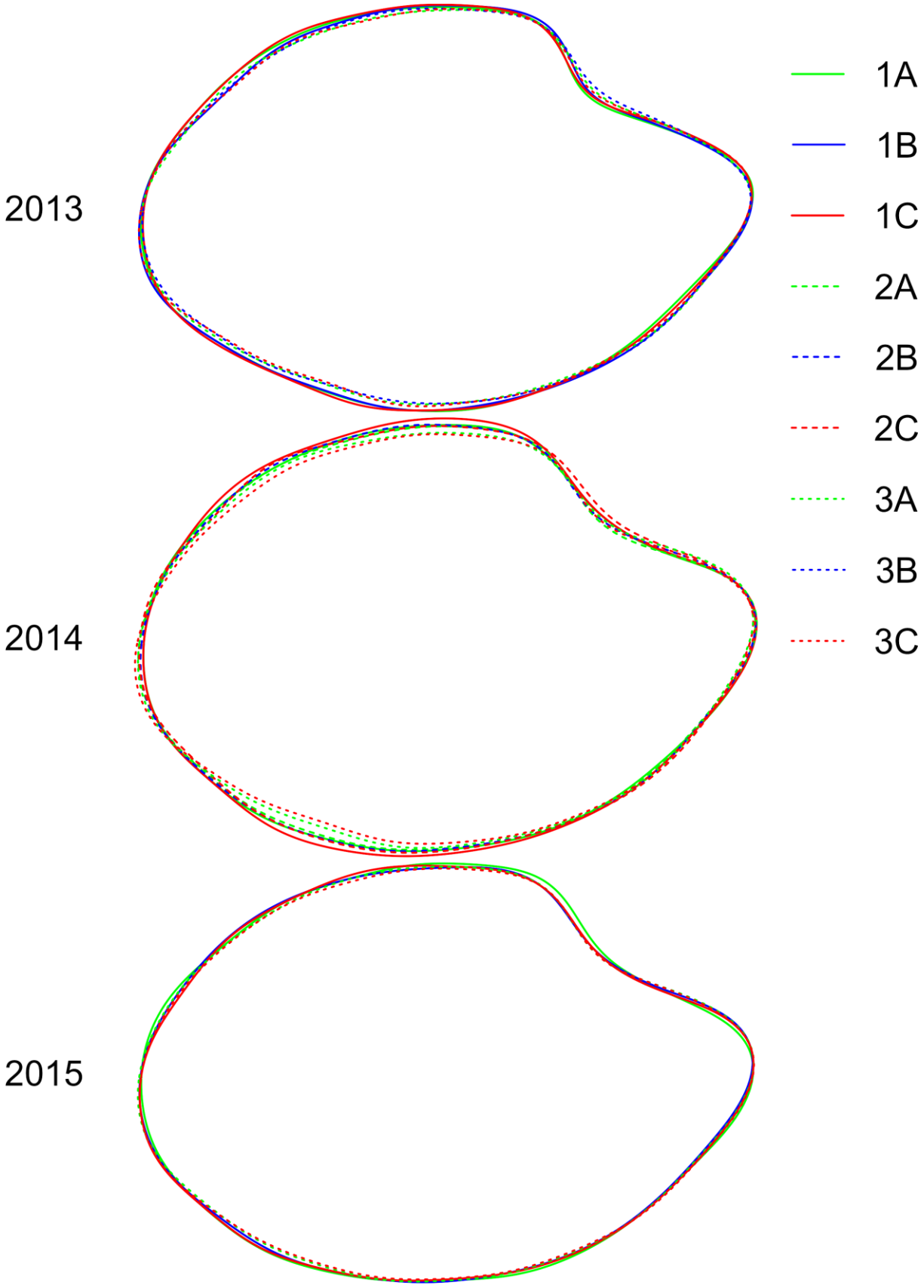


Figure 3-39 : *Oblada melanura,* superposition des contours moyens des otolithes pour les différents types de sites par zones, pour les années 2013, 2014 et 2015.
12 premières harmoniques utilisées. Vert : Type A ; bleu : Type B ; rouge : Type C.

III.C.2.c - Interprétation de ces résultats

Sur la base de nos résultats de comparaison entre zones incluant l'ensemble des oblades des différents types de sites, il est possible de différencier deux groupes de juvéniles d'*O. melanura* provenant de zones séparées par seulement 20 km. Ces résultats ont été reproductibles pour 2013 et 2015. Pour l'année 2014, du fait d'une période de prélèvement étendue ne permettant pas de comparer les différents prélèvements comme indiqué précédemment (III.C.1 -Validation de l'analyse de forme des *sagittae* comme indicateur), nous n'avons pas eu la possibilité de comparer les zones. La présence de différences de forme des otolithes entre poissons de zones géographiques différentes correspond aux observation tirées de la littérature pour des poissons adultes (Campana & Casselman, 1993; Smith *et al.*, 2002; Tracey *et al.*, 2006; Javor *et al.*, 2011; Bacha *et al.*, 2014, 2016), même si ces études ont été réalisées sur de plus grandes distances.

Parallèlement, la comparaison des différents types de sites incluant l'ensemble des poissons des différentes zones, a permis de distinguer les uns des autres les groupes d'individus résidant dans les différents types de sites présentant des environnements chimiques différents, c'est-à-dire à proximité de "port de plaisance", de "petit cours d'eau", ou provenant de sites "préservé". Ces résultats indiquent que, dans le cas des juvéniles d'*O. melanura*, comme chez l'adulte (Secor & Dean, 1989; Campana & Casselman, 1993; Anken *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2002; Galley *et al.*, 2006), la forme des otolithes varie en fonction de différences dans l'environnement où réside le poisson, et donc non seulement en fonction de la zone géographique mais aussi du fait de la qualité de l'eau.

Si les différences entre zones sont claires lorsque nous observons toutes les données (tous les types de sites inclus), les résultats sont plus difficiles à interpréter lorsque nous nous intéressons à un type d'environnement spécifique. En 2015, aucune différence entre zones n'a été mise en évidence pour aucun des environnements étudiés, mais une explication de ce phénomène est donnée par la validation croisée. En effet, le faible nombre d'individus dans la zone 1 comparativement au nombre dans la zone 3, associé à l'absence d'attributions franches des individus de la zone 1 à leur propre groupe, conduisent logiquement à un résultat non significatif malgré un succès d'allocation correct. Ces résultats de 2015 ne doivent donc pas être pris en compte. En 2013, où les nombres d'individus sont proches pour chaque zone, des différences significatives existent bien entre zones pour chacun des types étudiés.

Réalisées comme le pendant de ces comparaisons, les comparaisons entre types de sites pour chacune des zones conduisent à des résultats plus clairs. En effet, des différences significatives de forme des otolithes entre types de sites existent dans la zone 3 à l'Est, alors qu'aucune différence entre types n'est observée dans la zone 1 à l'Ouest. Ces résultats ont été reproductibles en 2013 et 2014, et des différences significatives ont aussi été observés dans la zone 2 en 2014. En 2015, l'absence de différence dans la zone 3 peut s'expliquer, comme vue précédemment (III.C.1 -Validation de l'analyse de forme des *sagittae* comme indicateur), par un échantillonnage plus précoce qu'en 2013 et 2014.

Une explication possible des différences observées associées aux zones peut être la différence de densités de population dans les zones qui conduirait à différents niveaux de contamination des rejets sous-marins d'eau souterraines (Moore, 2006). Comme les densités de population sont équivalentes pour les zones 2 et 3 mais inférieure dans la zone 1, la contamination qui en résulte peut varier en fonction des zones (plus faible en zone 1 que dans les zones 2 et 3). De plus, la différence entre les types est directement reliée aux environnements chimiques sélectionnés. Les résultats du test *Leave one out* (validation croisée de la CAP) pour la zone 3 en 2013 et la zone 2 en 2014 indiquent que les formes des otolithes pour les sites de type A ("préservé") et de type B ("petit cours d'eau") sont proches l'une de l'autre, malgré le fait que le type B soit connu pour être contaminé, principalement par des métaux (Fukai *et al.*, 1975; Du Laing *et al.*, 2009; Khan *et al.*, 2014). De plus, ces résultats révèlent que les formes des otolithes de ces deux types de sites (A et B) sont différentes de celle des sites de type C ("port de plaisance") connus pour être surtout contaminés par des hydrocarbures et des peintures de bateau (Telli Karakoc *et al.*, 1997; Konstantinou & Albanis, 2004; Damiens *et al.*, 2007; McCoy & Johnson, 2010). Ces résultats sont en accord avec les observations d'une étude précédente de l'impact d'un port sur des poissons en Méditerranée basée sur des mesures d'indicateurs classiques de stress oxydatif et de génotoxicité (Tsangaris *et al.*, 2011). Nos résultats correspondent aussi aux observations de modifications de comportement de poissons (accélérations et mouvements brutauxinduites par de l'eau provenant d'un port de plaisance de taille moyenne de Méditerranée nord occidentale (Díaz-Gil *et al.*, 2017). A l'inverse, l'absence de différence de formes d'otolithes que nous notons dans notre étude dans la zone 1, pour chacune des trois années, peut être due à la différence de tailles entre les ports de chaque zone. En effet, le port

de la zone 1 est de petite taille (~12 000 m²), au contraire des ports de taille moyenne des zones 2 (~60 000 m²) et 3 (~75 000 m²) qui sont presque cinq fois plus grands.

En résumé, en utilisant des juvéniles d'*O. melanura*, nous avons montré que des poissons de deux zones, séparées par seulement 20 km et ayant des niveaux différents d'activité anthropique, présentent des formes d'otolithes significativement différentes. De plus, dans des conditions estivales normales, les poissons provenant de sites situés à proximité de petits cours d'eau et ceux provenant de sites préservés de sources de contamination identifiées ne présentent pas de différence de formes d'otolithes. Toutefois, les juvéniles d'*O. melanura* de ces deux types de sites, qui ne présentent pas de différence de forme avec celle de poissons d'un port de plaisance de petite taille, présentent une forme d'otolithe significativement différente de celle des sites situés à proximité de ports de plaisance de taille moyenne. En conclusion, nous avons démontré que des ports de plaisance de taille moyenne ont un impact significatif sur la forme des otolithes de juvéniles d'*O. melanura* vivant à proximité. Il apparait aussi qu'une taille minimum de port de plaisance est requise pour avoir un impact sur la forme des otolithes et donc *a priori* avoir un impact sur l'environnement. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour le suivi de l'impact à la fois des réglementations et des changements des comportements des populations sur la vie marine.

Ces résultats font l'objet d'un article prochainement soumis, intitulé *"Juvenile Oblada melanura (L. 1758) otolith shape is impacted near recreational harbours and not by natural sources of potential contamination"*.

IV - Conclusion

Comme nous l'avons vu, si nous nous intéressons à un seul site et que nous y répétons des prélèvements dans le mois suivant l'installation des oblades, la longueur standard, le poids et la forme des otolithes de ces oblades vont varier, contrairement au niveau d'asymétrie fluctuante. En effet, la longueur standard et le poids moyens de ces oblades vont subir une augmentation significative, cette augmentation correspondant à la croissance (Lombarte & Lleonart, 1993), rapide à cet âge, de ces individus. La forme des otolithes (*sagittae*) va, parallèlement à la croissance des individus, changer pour se rapprocher de la forme spécifique aux oblades adultes. En partant d'une forme simple, lisse et presque circulaire, les *sagittae* vont donc changer et adopter une forme plus marquée avec un *rostrum* et un *anti-rostrum* bien marqués et une périphérie plus accidentée. Nous avons donc montré qu'un effet de la croissance de l'oblade sur la forme de ses otolithes doit être pris en compte si nous souhaitons comparer des groupes d'oblades prélevées à des dates différentes, ayant des tailles différentes. Il est important de travailler alors sur une classe de taille définie à partir de laquelle nous nous débarrassons de l'influence de la croissance sur la forme de l'otolithe, la forme des otolithes s'étant alors stabilisée. Pour les oblades, nous notons des changements de forme des otolithes pour des longueurs standards d'individus inférieures à 11 mm, une stabilisation de leur forme autour de 11-12 mm.

Nous avons aussi mis en évidence des variations significatives des paramètres morphologiques, du niveau d'AF, et de la forme des otolithes selon l'année de prélèvement. Cela reflète probablement le fait que les conditions environnementales aux mêmes sites ne sont pas strictement identiques d'une année à l'autre.

Si nous nous intéressons maintenant à deux sites proches l'un de l'autre, nous notons une évolution similaire concernant la longueur standard, le poids et la forme des *sagittae* ainsi qu'une absence de différence pour l'asymétrie fluctuante. Un élément supplémentaire fait cependant son apparition. Si initialement les deux sites présentent des valeurs de longueur standard, poids et forme des *sagittae* similaires, des différences significatives de forme entre sites apparaissent lors du second prélèvement. Ces variations de forme entre sites en fonction des dates de prélèvements, donc du temps passé sur le site pour le poisson, ont été confirmées les trois années testées. Cet élément est particulièrement intéressant compte tenu du fait que, selon Campana et Casselman (Campana & Casselman, 1993), les otolithes

d'adultes ne sont pas censés être influencés par des changements de courte durée. Nous avons ainsi démontré l'importance, dans le cadre d'une utilisation de juvéniles à des fins d'étude de l'influence de l'environnement, d'un temps de résidence minimal sur le site. Nous avons d'ailleurs mesuré pour l'oblade des différences de forme des *sagittae* pour 12 jours mais pas pour 7 jours.

Nous avons démontré que, si l'AF des otolithes ne semble varier que faiblement et seulement lorsque les conditions diffèrent fortement, la forme des *sagittae*, elle, est un marqueur efficace de différence entre environnements de résidence pour l'oblade.

Il est intéressant de noter que la forme des *sagittae* de juvéniles d'oblades permet de différencier des environnements différents mais géographiquement proches (et sur de courtes périodes, voir ci-dessus). Ces caractéristiques sont d'autant plus intéressantes que la plupart des études portant sur des différences de forme des otolithes associées à des environnements différents portent sur des poissons adultes (Secor & Dean, 1989; Campana & Casselman, 1993; Anken *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2002; Galley *et al.*, 2006) et sur des zones d'échantillonnages séparées par d'importantes distances (Campana & Casselman, 1993; Smith *et al.*, 2002; Tracey *et al.*, 2006; Javor *et al.*, 2011; Bacha *et al.*, 2014, 2016).

L'analyse des variables étudiées sur les neuf sites répartis en trois types et trois zones nous a apporté de nouvelles informations.

En premier lieu, la morphologie des individus prélevés dépend de la zone de prélèvement, les individus de la zone 1 présentant de manière presque systématique des valeurs de longueur standard et de poids inférieures à celles des deux autres zones. Si ces paramètres morphologiques dépendaient de l'ordre des dates de prélèvement nous aurions dû obtenir des résultats différents. Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette "anomalie". Tout d'abord nous pouvons imaginer une arrivée des "colons" par vagues successives en accord avec les courants dans la zone. Cette hypothèse permet d'expliquer des individus de plus grande morphologie dans la zone 3 et des individus de plus faible morphologie dans la zone 1. La seconde hypothèse est associée à une arrivée des "colons" simultanément sur l'ensemble du littoral, les différences observées entre zones étant alors liées aux conditions de vie rencontrées dans chaque zone. Cette hypothèse sous-entend que la zone 3, fortement anthropisée, présente des conditions plus favorables à la croissance des oblades que la zone 1, la plus faiblement anthropisée, par exemple du fait de sources de

nourriture plus importantes (Fletcher, 1995; Strelcheck *et al.*, 2003; Gagliano & McCormick, 2004; Hüssy, 2008; Javor *et al.*, 2011). Concernant les types de stations, les "port de plaisance" ont tendance à présenter des individus de longueurs standards et/ou poids moyens plus faibles que les deux autres types de stations, "préservé" et "petit cours d'eau".

En second lieu, le niveau d'asymétrie fluctuante des otolithes d'oblades semble peu varier selon l'environnement de résidence. En effet, seules quelques différences ponctuelles de quelques paramètres, variant d'une année à l'autre, et à l'échelle des sites, ont été mises en évidence. Cette absence de différence notable d'asymétrie est probablement liée à un coût fonctionnel important pour cette structure dont la défaillance peut induire une mortalité importante (Bergstrom & Reimchen, 2005; Gagliano *et al.*, 2008).

En troisième lieu, la comparaison de formes des otolithes révèle que des différences existent entre les oblades des zones les plus éloignées, pour des individus appartenant vraisemblablement à une même population (Calò *et al.*, 2016). De plus, les individus des types de stations "préservé" et "petit cours d'eau" ne présentent pas de différences de forme des *sagittae* entre eux, mais en présentent avec les individus des types "port de plaisance" de tailles moyennes (en zones 2 et 3). Cela pourrait s'expliquer par les faibles débits des cours d'eau de notre étude en période estivale qui pourraient rendre leurs environnements proches de celui des sites de type "préservé" à cette période, et par le fait que l'environnement doit être plus perturbé au niveau des "port de plaisance" de tailles moyennes qu'au niveau des types "préservé" et "petit cours d'eau".

Enfin, nous n'avons pas identifié de différence de formes d'otolithes entre les types de stations au niveau de la zone 1. Cette absence de différence peut s'expliquer en partie, comme indiqué précédemment, par la différence de surface entre les ports des différentes zones, explication la plus plausible. Toutefois, il est aussi possible de suspecter les faibles valeurs de longueur standard et de poids des individus de cette zone qui peut avoir eu deux effets dans notre étude. Premièrement, elle a causé le rejet de nombreux individus, ce qui ayant pu avoir pour conséquence de limiter la détection statistique d'une différence de forme. Deuxièmement, ces petites valeurs de longueur standard et de poids pourraient être, comme indiqué plus haut, le signe d'une installation plus tardive des oblades dans cette zone, ce qui correspondrait à un temps de résidence trop court pour permettre la mesure de l'influence de l'environnement de résidence sur l'otolithe.

En conclusion, du point de vue des expérimentations *in situ*, l'utilisation de l'asymétrie fluctuante ne semble pas, sur les *sagittae* de juvéniles d'oblades, aussi bien adaptée que les mesures simples de longueur standard et de poids des oblades, ou encore les analyses de forme de leurs *sagittae*, pour comparer des environnements différents. L'analyse de formes des otolithes semble prometteuse pour une utilisation en bioindication.

Chapitre 4 - Discussion et perspectives

Les variables morphologiques, tailles et poids, ainsi que les données de mortalité *in aquaria*, sont aisées d'obtention et permettent une estimation correcte de la *fitness* des individus. La mortalité, paramètre extrême (devant être évitée au maximum), reflète l'incapacité d'un organisme à survivre dans les conditions de son environnement (expérimental). Concernant la morphologie, l'indice K dit "indice de condition de Fulton" (Bolger & Connolly, 1989), comme les tailles et poids, pouvait sembler intéressant de par sa capacité à refléter l'état des ressources énergétiques d'un individu. Nous avons cependant pu constater ses limites *in aquaria* lorsque pour une concentration de zinc élevée conduisant à une forte mortalité et à de faibles valeurs de longueur standard et de poids, cet indice présentait des valeurs plus importantes que pour la condition témoin. *In situ*, de par l'absence d'abaque prenant en compte l'âge de l'individu, cet indice n'est pas utilisable pour comparer des individus en période de croissance. Hormis cet indice K, nous avons constaté que les données morphologiques, plus particulièrement la longueur standard et le poids, dépendent, *in aquaria*, des contaminants testés et de leur concentration, et *in situ*, de la zone géographique de la station de prélèvement et du type de station défini par son environnement chimique. Le parallèle entre concentrations d'une substance *in aquaria* et types de station *in situ* est aisé à comprendre, les paramètres morphologiques variant globalement en sens inverse du niveau de contamination. En ce qui concerne la différence de paramètres morphologiques selon les zones géographiques de prélèvements *in situ*, une explication peut être proposée. En effet, pour les sparidés la durée de développement pélagique de l'œuf au juvénile varie entre deux semaines et un mois et demi (Harmelin-Vivien *et al.*, 1995; Raventós & Macpherson, 2001; Macpherson & Raventós, 2006), et est plus précisément d'une durée entre 14 et 18 jours pour *Oblada melanura*, et durant cette période la plus grande part de leurs déplacements est liée à la courantologie de la zone, c'est-à-dire d'Est en Ouest dans cette région (Figure 3-32). Les différences observées entre zones peuvent être liées à des pontes successives, probablement associées à la température de l'eau, les pontes commençant dans les zones les plus méridionales (Sud-Est de la zone d'étude) où la température de l'eau augmente en premier, puis s'étendant plus au Nord. Si nous considérons que les courants dans la zone durant la période de reproductionrestent constants, la distance parcourue durant ces deux semaines de vie pélagique sera similaire quelle que soit la date de ponte. Les individus les plus âgés, premiers à rejoindre la côte, vont donc le faire dans la zone la plus orientale, c'est-à-dire la zone 3. Les individus plus jeunes, en terminant leur vie pélagique, gagneront

ensuite la côte. Leur arrivée s'étendra donc progressivement d'Est en Ouest, c'est-à-dire de la zone 3 à la zone 1, expliquant cette différence de taille/poids entre individus des différentes zones.

Concernant l'asymétrie fluctuante, chez certaines espèces de poissons (Downhower *et al.*, 1990; Somarakis *et al.*, 1997b; a, Anken *et al.*, 1998, 2002; Grønkjær & Sand, 2003; Gagliano & McCormick, 2004), l'asymétrie des otolithes a pu être présentée comme permettant de révéler une diminution de la *fitness* ou un stress. Cependant, dans la littérature des études montrent une absence de relation entre asymétrie fluctuante et *fitness* (Vøllestad & Hindar, 2001; Øxnevad *et al.*, 2002; Kruuk *et al.*, 2003). Ces études sont toutefois moins nombreuses que celles soulignant un lien entre asymétrie fluctuante et *fitness*, cette apparente rareté étant très probablement le fait d'un biais de publication (Palmer, 1999; Van Dongen, 2006; Debat, 2016), les résultats montrant une relation significative entre asymétrie et *fitness* étant préférentiellement publiés (Debat, 2016). Le fait est que, lors de nos expérimentations *in aquaria* comme *in situ*, la quantification de l'AF s'est montrée relativement peu concluante, avec une faible influence des conditions de vie sur l'asymétrie des *sagittae* de *Dicentrarchus labrax* et *Oblada melanura*. Cela étant dit, ce peu de variation d'AF pourrait être expliqué par le coût fonctionnel de l'asymétrie des *sagittae* (Bergstrom & Reimchen, 2005). En effet, plus le coût fonctionnel d'une asymétrie pour un paramètre donné est important, plus le développement de ce paramètre aurait tendance à être fortement canalisé afin d'en maintenir la fonction (Palmer, 1994; Debat, 2016). Nous pouvons par exemple imaginer que chez un poisson le développement des nageoires soit plus canalisé que le nombre d'écailles des flancs. Dans cet exemple, en cas de perturbation durant le développement nous pouvons nous attendre à une plus grande variabilité du nombre d'écailles que du nombre de rayons des nageoires. Compte-tenu du rôle important des otolithes dans l'audition et la reconnaissance dans l'espace (Hilbig *et al.*, 2002; Popper *et al.*, 2005; Lemberget & McCormick, 2009), une asymétrie de ces otolithes pourrait fortement perturber leurs fonctions et aboutir à une mortalité plus importante (Bergstrom & Reimchen, 2005; Gagliano *et al.*, 2008), telle que celle que nous avons eu en forte concentration de zinc (plus de la moitié des individus sont morts). Nous pouvons supposer un phénomène similaire en milieu naturel. Ces éléments pourraient expliquer le maintien d'une symétrie des *sagittae* chez les poissons survivants (malgré une modification de leur forme en cas de stress chimique intense). Par

ailleurs, il a été suggéré pour l'anchois adulte *Engraulis encrasicolus* (Kristoffersen & Magoulas, 2009) qu'un stress trop faible (lié à la disponibilité des ressources alimentaires : zooplancton moins abondant en mer Ionienne qu'en mer Égée dans l'exemple) n'avait pas d'effet sur l'AF. L'hypothèse retenue alors est qu'un stress doit être vraiment fort pour avoir un impact sur l'AF des otolithes de poissons (Campbell *et al.*, 1998; Grønkjær & Sand, 2003). Ces deux éléments se révèlent contradictoires, un stress suffisamment fort pouvant alors être létal. Dans notre étude, une contamination suffisante pour entraîner la mort de plus de la moitié des individus n'entraînant pas d'augmentation significative de l'asymétrie (vu *in aquaria*), la mesure de l'asymétrie des *sagittae* des poissons survivants ne semble pas adaptée, pour des juvéniles de *D. labrax et O. melanura*, à une utilisation comme indicateur biologique de la qualité de l'environnement.

Contrairement à l'asymétrie fluctuante, la forme des *sagittae* de juvéniles de poissons répond de manière intéressante à des modifications de leur milieu de vie, aussi bien *in aquaria* pour *D. labrax* qu'*in situ* pour *O. melanura*. Deux absences d'effet de l'environnement se sont toutefois révélées, l'une *in aquaria* lors de l'expérimentation sur le phosphate, l'autre *in situ* concernant les sites de type "petit cours d'eau". L'absence d'effet *in aquaria* doit simplement être à rechercher du côté de la faible toxicité du phosphate, ce dernier pouvant d'ailleurs être utilisé en aquaculture comme composant des aliments utilisés afin d'améliorer la *fitness* des poissons (Hepher & Sandbank, 1984; Tang *et al.*, 2012). *In situ*, une similarité semble exister entre les types de stations "préservé" et "petit cours d'eau". En effet, comme brièvement présenté précédemment, nous émettons l'hypothèse qu'en période estivale nos stations de type "petit cours d'eau" ne présenteraient pas un débit d'eau suffisant pour influencer les sites de prélèvements, ces derniers se rapprocheraient donc, du point de vue de leur environnement, des sites de type "préservé". Cette hypothèse fonctionne dans la zone 3 où le site de type "petit cours d'eau" est situé à la sortie d'un torrent de montagne tari en été (en dehors d'épisodes orageux), ainsi que, pour les mêmes raisons, dans la zone 2 où le site de prélèvement est situé en sortie du "réseau d'eau pluvial du Laval" dans l'anse de l'Ilette à Antibes. En revanche elle ne s'applique pas dans la zone 1 où le site de prélèvement se situe en sortie de "Le Béal", ce dernier ayant un débit continu tout au long de l'année. Notons toutefois que la similarité entre sites de types "préservé" et "petit cours d'eau" est moins marquée dans la zone 1, ce qui supporte cette hypothèse. Nous avons démontré que les

formes des *sagittae* des oblades provenant des sites de types "préservé" et "petit cours d'eau" diffèrent de celle provenant des "port de plaisance" réputés pour leur contamination. Nos expérimentations *in aquaria* ont montré que les contaminations mono-polluant ne présentent pas d'effet sur la forme des *sagittae* aux concentrations environnementales. Notre hypothèse est donc qu'il existe un effet synergique de l'ensemble des sources de contamination rencontrées au niveau des sites de type "port de plaisance". Il est connu que ce type de sites présente de multiples sources de nuisances possibles pour la vie marine. L'origine de ces nuisances peut être chimique et liée aux activités normales de ces ports avec par exemple les contaminations provenant des peintures de coques (Konstantinou & Albanis, 2004; Damiens *et al.*, 2007), des détergents et autres contaminants liés à l'entretien d'embarcations de plaisance (McCoy & Johnson, 2010), ou accidentelles comme des rejets d'hydrocarbures (Telli Karakoc *et al.*, 1997; Mestres *et al.*, 2010). Mais les ports sont aussi sources de perturbations physiques associés aux nuisances sonores (Codarin *et al.*, 2009) ou à la présence de particules en suspension (Isono *et al.*, 1998) (ex. sédiments). A la vue de ces sources de stress dans les ports, il semble étrange que nous n'ayons pas identifié de différence de formes des *sagittae* entre types de sites au niveau de la zone 1. Comme indiqué précédemment, notre principale hypothèse pour expliquer cela se réfère aux dimensions des ports de plaisances de chaque zone. Les ports des zones 2 et 3 étant respectivement environ 5 et 6,25 fois plus grands que celui de la zone 1, nous pouvons nous attendre à un effet plus important de ces derniers sur la forme des *sagittae*. A ce phénomène pourrait venir s'ajouter le plausible décalage des pontes, suggéré précédemment, pouvant aboutir à des individus plus jeunes de plus petites tailles et amener à la fois à leur rejet des analyses (<11 mm) et à des durées de résidences plus faibles n'ayant pas permis d'intégrer correctement l'"information" des sites de cette zone.

En conclusion, l'analyse des formes des otolithes de juvéniles de poissons est bien adaptée pour suivre des modifications de l'environnement des poissons et permet *in situ* de distinguer non seulement des zones géographiques, comme montré dans la littérature dans des études sur poissons adultes (Campana & Casselman, 1993; Smith *et al.*, 2002; Tracey *et al.*, 2006; Javor *et al.*, 2011; Bacha *et al.*, 2014, 2016), mais aussi des types d'environnements chimiques. L'analyse de formes des otolithes semble donc prometteuse pour une utilisation en bioindication. Il faudrait appliquer cette analyse à d'autres poissons *in situ* pour valider totalement cet indicateur.

Jusqu'à présent nous ne nous sommes intéressés qu'aux résultats de nos trois méthodes d'analyse (morphologie des poissons, asymétrie fluctuante et forme des otolithes). Or du point de vu d'une potentielle application et utilité en dehors d'un environnement de recherche, le temps et la technicité nécessaires à l'obtention des résultats doivent aussi être pris en considération. Les mesures de taille et de poids des animaux sont rapidement et facilement réalisables mais moins informatives en fonction de la nature des changements environnementaux. L'obtention des données brutes sous forme de photographies des *sagittae* est identique pour l'étude de l'asymétrie et de la forme. Cependant, l'étude de l'asymétrie nécessite un nombre plus important de mesures et de vérifications que celles utilisées dans le cadre de l'étude de la forme. L'ensemble de vérifications des pré-requis pour l'AF rend peu probable une potentielle automatisation de l'analyse de l'asymétrie. Au contraire, une automatisation peut s'appliquer à l'analyse de forme. Ce dernier point peut sembler anodin dans une optique de recherche où l'unique objectif n'est pas l'obtention rapide de résultats, cependant il est crucial dans l'optique d'une potentielle application pour des gestionnaires de l'environnement.

Une suite logique aux travaux de cette thèse serait, *in aquaria*, la poursuite de tests de différents contaminants chimiques classiques des zones côtières comme les détergents, hormones de synthèses, etc., mais aussi physiques comme les particules en suspensions, le bruit, etc., afin de déterminer s'ils présentent un impact sur la forme des otolithes. En parallèle, *in situ*, il serait nécessaire d'adapter les méthodes de prélèvements et d'analyses à d'autres sparidés, comme *Diplodus sargus, Diplodus annularis* ou *Diplodus vulgaris* et à d'autres familles, afin de faire potentiellement de l'analyse de formes des otolithes de juvéniles de poissons un indicateur universel de la qualité des environnements côtiers. Enfin, le transfert de cette méthode d'analyse de formes des otolithes à des gestionnaires de l'environnement est l'application pratique envisagée.

Bibliographie

ALLENBACH D.M., 2010, « Fluctuating asymmetry and exogenous stress in fishes: a review », *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 21, (3) : 355-376.

ALLENBACH D.M., K.B. SULLIVAN et M.J. LYDY, 1999, « Higher fluctuating asymmetry as a measure of susceptibility to pesticides in fishes », *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18, (5) : 899-905.

ALMEIDA D., A. ALMODÓVAR, G.G. NICOLA et B. ELVIRA, 2008, « Fluctuating asymmetry, abnormalities and parasitism as indicators of environmental stress in cultured stocks of goldfish and carp », *Aquaculture*, 279, (1–4) : 120-125.

ANDERSON M.J., 2001, « Permutation tests for univariate or multivariate analysis of variance and regression », *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 58, (3) : 626-639.

ANDERSON M.J., R.N. GORLEY et K.R. CLARKE, 2008, *PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods*, Plymouth, UK, PRIMER-E Ltd

ANDERSON M.J. et T.J. WILLIS, 2003, « Canonical Analysis of Principal Coordinates: A Useful Method of Constrained Ordination for Ecology », *Ecology*, 84, (2) : 511-525.

ANKEN R.H., M. BEIER et H. RAHMANN, 2002, « Influence of hypergravity on fish inner ear otoliths: I. Developmental growth profile », *Advances in space research: the official journal of the Committee on Space Research (COSPAR)*, 30, (4) : 721-725.

ANKEN R.H., K. WERNER, M. IBSCH et H. RAHMANN, 1998, « Fish inner ear otolith size and bilateral asymmetry during development », *Hearing Research*, 121, (1-2) : 77-83.

ATSDR, 2004, *Toxicological profile of copper*. Atlanta, Georgia ,USA, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 314pp.

AZAD M., 2013, « Why are Early Life Stages of Aquatic Organisms more Sensitive to Toxicants than Adults? » *in New Insights into Toxicity and Drug Testing*. 49-62. Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia, Sivakumar Gowder.

BACHA M., S. JEMAA, A. HAMITOUCHE, K. RABHI et R. AMARA, 2014, « Population structure of the European anchovy, Engraulis encrasicolus, in the SW Mediterranean Sea, and the Atlantic Ocean: evidence from otolith shape analysis », *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, (71) : 2429-2435.

BACHA M., A.M. JEYID, S. JAAFOUR, A. YAHYAOUI, M. DIOP et R. AMARA, 2016, « Insights on stock structure of round sardinella Sardinella aurita off north-west Africa based on otolith shape analysis », *Journal of Fish Biology*, 89, (4) : 2153-2166.

BAGNI M., 2005, *FAO Fisheries & Aquaculture - Cultured aquatic species fact sheets - Dicentrarchus labrax (Linnaeus, 1758)*. Rome, FAO, 12pp.

BARNABÉ G., 1980, *Expose synoptique des donnees biologiques sur le loup ou bar Dicentrarchus labrax (Linne, 1758)*, Rome, Fao, Fishery Resources and Environment Div

BAUCHOT M.L. et J.C. HUREAU, 1990, « Sparidae ». *in* J. C. Quero, J. C. Hureau, C. Karrer, et A. Post (éd.): *Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA)*. 790-812. Lisbon and Paris, UNESCO.

BEGG G.A., W.J. OVERHOLTZ et N.J. MUNROE, 2001, « The use of internal otolith morphometrics for identification of haddock (Melanogrammus aeglefinus) stocks on Georges Bank », *Fishery Bulletin*, 99, (1) : 1-1.

BERG L., 1985, *Yougoslavie développement de la culture du bar*. The former Yugoslav Republic of Macedonia, FAO. Rapport de projet, 74pp.

BERGSTROM C.A. et T.E. REIMCHEN, 2005, « Habitat dependent associations between parasitism and fluctuating asymmetry among endemic stickleback populations », *Journal of Evolutionary Biology*, 18, (4) : 939-948.

BETÜL K., Y. MURAT et B. MUSA, 2011, « Evaluation of the Recovery Time of Sea Bass (Dicentrarchus Labrax Linnaeus, 1758) Juveniles from transport and handling stress: using ammonia nitrogen excretion rates as a stress indicator », *Journal of Marine Science and Technology*, 19, (6) : 681-685.

BOLGER T. et P.L. CONNOLLY, 1989, « The selection of suitable indices for the measurement and analysis of fish condition », *Journal of Fish Biology*, 34, (2) : 171-182.

BONHOMME V., S. PICQ, C. GAUCHEREL et J. CLAUDE, 2014, « Momocs: Outline Analysis Using R », *Journal of Statistical Software*, 56, (13) : 1-24.

BORRELL Y.J., H. PINEDA, I. MCCARTHY, E. VÁZQUEZ, J.A. SÁNCHEZ et G.B. LIZANA, 2004, « Correlations between fitness and heterozygosity at allozyme and microsatellite loci in the Atlantic salmon, Salmo salar L », *Heredity*, 92, (6) : 585-593.

CAIRNS J.J., 2013, « Stress, Environmental ». *in Encyclopedia of Biodiversity*. 39-44. New York, Elsevier.

CALÒ A., I. MUÑOZ, Á. PÉREZ-RUZAFA, C. VERGARA-CHEN et J.A. GARCÍA-CHARTON, 2016, « Spatial genetic structure in the saddled sea bream (Oblada melanura [Linnaeus,1758]) suggests multi-scaled patterns of connectivity between protected and unprotected areas in the Western Mediterranean Sea », *Fisheries Research*, (176) : 30-38.

CAMPANA S.E., 2005, « Otolith science entering the 21st century », *Marine and Freshwater Research*, 56, (5) : 485-495.

CAMPANA S.E. et J.M. CASSELMAN, 1993, « Stock Discrimination Using Otolith Shape Analysis », *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 50, (5) : 1062-1083.

CAMPBELL W.B., J.M. EMLEN et W.K. HERSHBERGER, 1998, « Thermally Induced Chronic Developmental Stress in Coho Salmon: Integrating Measures of Mortality, Early Growth, and Developmental Instability », *Oikos*, 81, (2) : 398-410.

CENSI P., S. MAZZOLA, G. ALONZO, F. SAIANO, B. PATTI, M. SPROVIERI, A. BONANNO et S.E. SPOTO, 2002, « Trace element distributions in the Strait of Sicily (Central Mediterranean Sea). I. Evidence of rock-water interactions and pollution », *PERIODICO di MINERALOGIA*, 71, (3) : 255-272.

CHATAIN B. (Station E. d'Aquaculture I. et D. CORRAO, 1992, « A sorting method for eliminating fish larvae without functional swimbladders », *Aquaculture (Netherlands)*.

CHEMINÉE A., 2012, « Ecological functions, transformations and management of infralittoral rocky habitats from the North-western Mediterranean: the case of fish (Teleostei) nursery habitats ». Thèse de doctorat, École doctorale Sciences fondamentales et appliquées

CHEMINÉE A., E. SALA, J. PASTOR, P. BODILIS, P. THIRIET, L. MANGIALAJO, J.-M. COTTALORDA et P. FRANCOUR, 2013, « Nursery value of Cystoseira forests for Mediterranean rocky reef fishes », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 442 : 70-79.

CHRISTIANSEN T., A. RUUS, A.-S. HEISKANEN, A. KÜNITZER, A. RAIKE, B. BJERKENG, C. EMBLOW, G. COPPINI, H. SPARHOLT, J.H. ANDERSEN, J.-M. LEPPÄNEN, J.N. JENSEN, M. LAGO, M. PETERLIN, N. PINARDI, N. HOLDSWORTH, N. GREEN, P. DEGNBOL, B.M. SHARRY, S. CONDÉ, A.I. CAMPOS, J. ORR et S. van den HOVE, 2010, *Marine and coastal environment — SOER 2010 thematic assessment — European Environment Agency*, Copenhague, European Environment Agency of the European Union

CLAISSE D. et C. ALZIEU, 1993, « Copper contamination as a result of antifouling paint regulations? », *Marine Pollution Bulletin*, 26, (7) : 395-397.

CODARIN A., L.E. WYSOCKI, F. LADICH et M. PICCIULIN, 2009, « Effects of ambient and boat noise on hearing and communication in three fish species living in a marine protected area (Miramare, Italy) », *Marine Pollution Bulletin*, 58, (12) : 1880-1887.

COOPER T.F. et K.E. FABRICIUS, 2012, « Pigmentation of massive corals as a simple bioindicator for marine water quality », *Marine Pollution Bulletin*, 65, (4–9) : 333-341.

CRESSON P., M. BOUCHOUCHA, F. MIRALLES, R. ELLEBOODE, K. MAHÉ, N. MARUSCZAK, H. THEBAULT et D. COSSA, 2015, « Are red mullet efficient as bio-indicators of mercury contamination? A case study from the French Mediterranean », *Marine Pollution Bulletin*, 91, (1) : 191-199.

DAMIENS G., M. GNASSIA-BARELLI, F. LOQUÈS, M. ROMÉO et V. SALBERT, 2007, « Integrated biomarker response index as a useful tool for environmental assessment evaluated using transplanted mussels », *Chemosphere*, 66, (3) : 574-583.

DARLINGTON R.B., 1970, « Is Kurtosis Really "Peakedness?" », *The American Statistician*, 24, (2) : 19-22.

DEBAT V., 2016, « Symmetry is beauty – or is it?: Grandeur et décadence de l'asymétrie fluctuante », *médecine/sciences*, 32, (8-9) : 774-780.

DEGENS E.T., W.G. DEUSER et R.L. HAEDRICH, 1969, « Molecular structure and composition of fish otoliths », *Marine Biology*, 2, (2) : 105-113.

DEVAUCHELLE N., 1983, « Reproduction décalée du Bar (Dicentrarchus labrax) et de la Daurade (Sparus aurata) ».

DÍAZ-GIL C., L. COTGROVE, S.L. SMEE, D. SIMÓN-OTEGUI, H. HINZ, A. GRAU, M. PALMER et I.A. CATALÁN, 2017, « Anthropogenic chemical cues can alter the swimming behaviour of juvenile stages of a temperate fish », *Marine Environmental Research*, 125, (Supplement C) : 34-41.

DÍAZ-GIL C., M. PALMER, I.A. CATALÁN, J. ALÓS, L.A. FUIMAN, E. GARCÍA, M. del M. GIL, A. GRAU, A. KANG, R.H. MANEJA, J.A. MOHAN, B. MORRO, J.J. SCHAFFLER, L. BUTTAY, I. RIERA-BATLE, B. TOLOSA et B. MORALES-NIN, 2015, « Otolith fluctuating asymmetry: a misconception of its biological relevance? », *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil* : fsv067.

DOWNHOWER J.F., L.S. BLUMER, P. LEJEUNE, P. GAUDIN, A. MARCONATO et A. BISAZZA, 1990, « Otolith asymmetry in Cottus bairdi and C. gobio », *Ploskie Archiwum Hydrobiologii*, 37, (1-2) : 209-220.

DU LAING G., J. RINKLEBE, B. VANDECASTEELE, E. MEERS et F.M.G. TACK, 2009, « Trace metal behaviour in estuarine and riverine floodplain soils and sediments: A review », *Science of The Total Environment*, 407, (13) : 3972-3985.

DUCROTOY J.-P. et T. YANAGI, 2008, « Tools and concepts on ecological quality of coastal and estuarine environments », *Marine Pollution Bulletin*, 57, (1) : 1-2.

EISLER R., 1998, *Copper hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review*. Laurel, MD, U.S. Department of the Interior, Geological Survey. Organization Series, 103pp.

ERIKSEN M.S., Å.M. ESPMARK, T. POPPE, B.O. BRAASTAD, R. SALTE et M. BAKKEN, 2006, « Fluctuating asymmetry in farmed Atlantic salmon (Salmo salar) juveniles: also a maternal matter? », *Environmental Biology of Fishes*, 81, (1) : 87-99.

EUROPEAN ENVIRONMENT AGENCY, 2006, *Priority issues in the Mediterranean environment (revised version) — European Environment Agency*, Copenhague, European Environment Agency of the European Union

FALINI G., S. FERMANI, S. VANZO, M. MILETIC et G. ZAFFINO, 2005, « Influence on the Formation of Aragonite or Vaterite by Otolith Macromolecules », *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2005, (1) : 162-167.

FARAGALLAH H.M., A.I. ASKAR, M.A. OKBAH et H.M. MOUSTAFA, 2009, « Physico-chemical characteristics of the open Mediterranean sea water far about 60 Km from Damietta harbor, Egypt », *Journal of Ecology and The Natural Environment*, 1, (5) : 106-119.

FERREIA T. et W. RASBAND, 2012, *ImageJ User Guide - IJ 1.46*, Bethesda, Maryland, USA, U.S. National Institutes of Health

FLEISCHER M., 1953, *Recent estimates of the abundances of the elements. in the earth' crust*. Washington, D. C., United States Department of the Interior, 14pp.

FLETCHER W.J., 1995, « Application of the otolith weight – age relationship for the pilchard, Sardinops sagax neopilchardus », *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52, (4) : 657-664.

FONTECAVE M. et J.-L. PIERRE, 1998, « Oxidations by copper metalloenzymes and some biomimetic approaches », *Coordination Chemistry Reviews*, 170, (1) : 125-140.

FORCHHAMMER G., 1865, « On the Composition of Sea-Water in the Different Parts of the Ocean », *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 155 : 203-262.

FREEMAN H., 1974, « Computer Processing of Line-Drawing Images », *ACM Computing Surveys*, 6, (1) : 57–97.

FRIEDEN E., 1976, « Copper and iron metalloproteins », *Trends in Biochemical Sciences*, 1, (4) : 273-274.

FROESE R. et T. MUSSCHOOT, « Dicentrarchus labrax », *FishBase*.

FUKAI R. et L. HUYNH-NGOC, 1975, « Chemical forms of zinc in sea water », *Journal of the Oceanographical Society of Japan*, 31, (5) : 179-191.

FUKAI R. et L. HUYNH-NGOC, 1976, « Copper, zinc and cadmium in coastal waters of the N.W. Mediterranean », *Marine Pollution Bulletin*, 7, (1) : 9-13.

FUKAI R., L. HUYNH-NGOC et C.N. MURRAY, 1973, « Possible Transformation of Zinc Dissolved in Mediterranean Coastal Sea Water », *Journal of the Oceanographical Society of Japan*, 29, (1) : 44-45.

FUKAI R., C.N. MURRAY et L. HUYNH-NGOC, 1975, « Variations of soluble zinc in the Var River and its estuary », *Estuarine and Coastal Marine Science*, 3, (2) : 177-188.

GAEMERS P.A.M., 1983, « Taxonomic Position of the Cichlidae (Pisces, Perciformes) as Demonstrated By the Morphology of Their Otoliths », *Netherlands Journal of Zoology*, 34, (4) : 566-595.

GAGLIANO M., M. DEPCZYNSKI, S.D. SIMPSON et J.A.Y. MOORE, 2008, « Dispersal without errors: symmetrical ears tune into the right frequency for survival », *Proceedings. Biological Sciences / The Royal Society*, 275, (1634) : 527-534.

GAGLIANO M. et M.I. MCCORMICK, 2004, « Feeding history influences otolith shape in tropical fish », *Marine Ecology Progress Series*, 278 : 291-296.

GAGLIANO M. et M.I. MCCORMICK, 2009, « Hormonally mediated maternal effects shape offspring survival potential in stressful environments », *Oecologia*, 160, (4) : 657-665.

GALLEY E.A., P.J. WRIGHT et F.M. GIBB, 2006, « Combined methods of otolith shape analysis improve identification of spawning areas of Atlantic cod », *ICES Journal of Marine Science: Journal du Conseil*, 63, (9) : 1710-1717.

GANDOLFO G., 2007, « Comment l'esprit influence-t-il le corps? », *Biologie Géologie*, (3-2007) : 493-517.

GANGESTAD et THORNHILL, 1999, « Individual differences in developmental precision and fluctuating asymmetry: a model and its implications », *Journal of Evolutionary Biology*, 12, (2) : 402-416.

GARCÍA-GÓMEZ A., F. DE LA GÁNDARA et T. RAJA, 2002, « Utilización del aceite de clavo, Syzygium aromaticum L. (Merr. & Perry), como anestésico eficaz y económico para labores rutinarias de manipulación de peces marinos cultivados », *Boletín. Instituto Español de Oceanografía*, 18, (1-4) : 21-23.

GAULDIE R.W., 1993, « Polymorphic crystalline structure of fish otoliths », *Journal of Morphology*, 218, (1) : 1-28.

GIARDINA C.R. et F.P. KUHL, 1977, « Accuracy of curve approximation by harmonically related vectors with elliptical loci », *Computer Graphics and Image Processing*, 6, (3) : 277-285.

GIRIN M. et J. PERSON-LE RUYET, 1977, « L'élevage larvaire des poissons marins : chaînes alimentaires et aliments composés », (264) : 88-101.

GOVIND C.K., 1992, « Claw asymmetry in lobsters: Case study in developmental neuroethology », *Journal of Neurobiology*, 23, (10) : 1423-1445.

GRØNKJÆR P. et M.K. SAND, 2003, « Fluctuating asymmetry and nutritional condition of Baltic cod (Gadus morhua) larvae », *Marine Biology*, 143, (1) : 191-197.

GUERZONI S., E. MOLINAROLI et R. CHESTER, 1997, « Saharan dust inputs to the western Mediterranean Sea: depositional patterns, geochemistry and sedimentological implications », *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 44, (3) : 631-654.

HAMELINK J., P.F. LANDRUM, H. BERGMAN et W.H. BENSON, 1994, *Bioavailability: Physical, Chemical, and Biological Interactions*, CRC Press

HARMELIN-VIVIEN M.L., J.G. HARMELIN et V. LEBOULLEUX, 1995, « Microhabitat requirements for settlement of juvenile sparid fishes on Mediterranean rocky shores », *Hydrobiologia*, 300-301, (1) : 309-320.

HELBECQUE N. et J. HÉNICHART, 1988, « Les "doigts à zinc" éléments de reconnaissance de l'ADN », *médecine/sciences*, 4, (10) : 624.

HEPHER B. et S. SANDBANK, 1984, « The effect of phosphorus supplementation to common carp diets on fish growth », *Aquaculture*, 36, (4) : 323-332.

HILBIG R., R.H. ANKEN, G. SONNTAG, S. HÖHNE, J. HENNEBERG, N. KRETSCHMER et H. RAHMANN, 2002, « Effects of altered gravity on the swimming behaviour of fish », *Advances in Space Research*, 30, (4) : 835-841.

HILDERING A., A.M. KEESSEN et H.F.M.W. van RIJSWICK, 2009, « Tackling pollution of the Mediterranean Sea from land-based sources by an integrated ecosystem approach and the use of the combined international and European legal regimes », *Utrecht Law Review*, 5, (1).

HOFFMANN A.A. et P.A. PARSONS, 1991, *Evolutionary genetics and environmental stress*, Oxford University Press

HÜSSY K., 2008, « Otolith shape in juvenile cod (Gadus morhua): Ontogenetic and environmental effects », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 364, (1) : 35-41.

ISONO R.S., J. KITA et T. SETOGUMA, 1998, « Acute effects of kaolinite suspension on eggs and larvae of some marine teleosts », *Comparative Biochemistry and Physiology. Part C, Pharmacology, Toxicology & Endocrinology*, 120, (3) : 449-455.

IWATA H. et Y. UKAI, 2002, « SHAPE: A Computer Program Package for Quantitative Evaluation of Biological Shapes Based on Elliptic Fourier Descriptors », *Journal of Heredity*, 93, (5) : 384-385.

J. ÁLVAREZ-ROGEL, F. J. JIMÉNEZ-CÁRCELES et C. EGEA NICOLÁS, 2006, « Phosphorus and Nitrogen Content in the Water of a Coastal Wetland in the Mar Menor Lagoon (Se Spain): Relationships With Effluents From Urban and Agricultural Areas », *Water, Air, and Soil Pollution*, 173, (1-4) : 21-38.

JANSEN M.A.K. et G. POTTERS, 2017, « Stress: The Way of Life ». *in Plant Stress Physiology, 2nd Edition*. IX-XIV. CABI.

JAVOR B., N. LO et R. VETTER, 2011, « Otolith morphometrics and population structure of Pacific Sardine (Sardinops sagax) along the west coast of North America », *Fishery Bulletin- National Oceanic and Atmospheric Administration*, 109, (4) : 402-415.

KARLSSON J., E. YTREBERG et B. EKLUND, 2010, « Toxicity of anti-fouling paints for use on ships and leisure boats to non-target organisms representing three trophic levels », *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 158, (3) : 681-687.

KENDALL A.W.J., E.H. AHLSTROM et H.G. MOSER, 1983, « Early Life History Stages of Fishes and Their Characters ». *in* 11-22. American Society of Ichthyologists.

KHAN M.B., M. MASIOL, A. HOFER et B. PAVONI, 2014, « Harmful Elements in Estuarine and Coastal Systems ». *in PHEs, Environment and Human Health*. 37-83. Springer, Dordrecht.

KNAUER K., R. BEHRA et L. SIGG, 1997, « Effects of free Cu2+ and Zn2+ ions on growth and metal accumulation in freshwater algae », *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16, (2) : 220-229.

KONSTANTINOU I.K. et T.A. ALBANIS, 2004, « Worldwide occurrence and effects of antifouling paint booster biocides in the aquatic environment: a review », *Environment International*, 30, (2) : 235-248.

KRISTOFFERSEN J.B. et A. MAGOULAS, 2009, « Fluctuating asymmetry and fitness correlations in two Engraulis encrasicolus populations », *Journal of Fish Biology*, 75, (10) : 2723-2736.

KRUUK L.E.B., J. SLATE, J.M. PEMBERTON et T.H. CLUTTON-BROCK, 2003, « Fluctuating asymmetry in a secondary sexual trait: no associations with individual fitness, environmental stress or inbreeding, and no heritability », *Journal of Evolutionary Biology*, 16, (1) : 101-113.

KUHL F.P. et C.R. GIARDINA, 1982, « Elliptic Fourier features of a closed contour », *Computer Graphics and Image Processing*, 18, (3) : 236-258.

L'ABÉE-LUND J.H., 1988, « Otolith shape discriminates between juvenile Atlantic salmon, Salmo salar L., and brown trout, Salmo trutta L. », *Journal of Fish Biology*, 33, (6) : 899-903.

LEMBERGET T. et M.I. MCCORMICK, 2009, « Replenishment success linked to fluctuating asymmetry in larval fish », *Oecologia*, 159, (1) : 83-93.

LOIX B., 1986, *Techniques d'elevage intensif et d'alimentation de poissons et de crustaces*. Villanova di Motta di Livenza - ITALIE, FAO. Rapport de projet, 201pp.

LOMBARTE A. et J. LLEONART, 1993, « Otolith size changes related with body growth, habitat depth and temperature », *Environmental Biology of Fishes*, 37, (3) : 297-306.

MACLEOD N., 2012, « The Centre Cannot Hold II: Elliptic Fourier Analysis », *PalaeoMath*, 25, (79) : 13.

MACPHERSON E. et N. RAVENTÓS, 2006, « Relationship between pelagic larval duration and geographic distribution of Mediterranean littoral fishes », *Marine Ecology Progress Series*, 327 : 257-265.

MALICET J., D. DAUMONT, J. CHARBONNIER, C. PARISSE, A. CHAKIR et J. BRION, 1995, « Ozone UV spectroscopy. II. Absorption cross-sections and temperature dependence », *Journal of Atmospheric Chemistry*, 21, (3) : 263-273.

MARBÀ N., D. KRAUSE-JENSEN, T. ALCOVERRO, S. BIRK, A. PEDERSEN, J.M. NETO, S. ORFANIDIS, J.M. GARMENDIA, I. MUXIKA, A. BORJA, K. DENCHEVA et C.M. DUARTE, 2012, « Diversity of European seagrass indicators: patterns within and across regions », *Hydrobiologia*, 704, (1) : 265-278.

MARCELLI A., J. BEDOUELLE, M. CARA, J. CIVATTE, P. DELAVEAU, J. FROTTIER, C.-P. GIUDICELLI, J. HUREAU, J.-R.L. GALL, F. MAQUART, J.-L. MICHAUX, C. NEZELOF, J. POLONOVSKI, F. RODHAIN, J. ROUËSSÉ, M.V. DELAGE et M. MÉRIAUX, 2016, « Statoconie », *Dictionnaire médical de l'Académie de Médecine*.

MARQUES PEREIRA N., 2010, *Notes on anaesthesia and surgery in fish*. Monte da Caparica, Ordem dos Médicos Veterinários, 17pp.

MAZZI D., C.R. LARGIADÈR et T.C.M. BAKKER, 2002, « Inbreeding and developmental stability in three-spined sticklebacks (Gasterosteus aculeatus L.) », *Heredity*, 89, (4) : 293-299.

MCCALL K.A., C. HUANG et C.A. FIERKE, 2000, « Function and mechanism of zinc metalloenzymes », *The Journal of Nutrition*, 130, (5S Suppl) : 1437S-46S.

MCCOY E.J.A. et L.T. JOHNSON, 2010, « Boating Pollution Economics & Impacts »,

MCGUINNESS K.A., 2002, « Of rowing boats, ocean liners and tests of the anova homogeneity of variance assumption », *Austral Ecology*, 27, (6) : 681-688.

MCKENZIE J.A., 2003, « The Analysis of Asymmetry Phenotype: Single Gene and the Environment ». *in Developmental Instability: Causes and Consequences*. 135-141. Oxford, Polak M.

MESTRES M., J.P. SIERRA, C. MÖSSO et A. SÁNCHEZ-ARCILLA, 2010, « Sources of contamination and modelled pollutant trajectories in a Mediterranean harbour (Tarragona, Spain) », *Marine Pollution Bulletin*, 60, (6) : 898-907.

MØLLER A.P., 2006, « A review of developmental instability, parasitism and disease. Infection, genetics and evolution », *Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases*, 6, (2) : 133-140.

MOORE W.S., 2006, « The role of submarine groundwater discharge in coastal biogeochemistry », *Journal of Geochemical Exploration*, 88, (1) : 389-393.

MORALES-NIN B., 2000, « Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation », *Fisheries Research*, 46, (1–3) : 53-67.

MORROW J.E., 1979, *Preliminary keys to otoliths of some adult fishes of the Gulf of Alaska, Bering Sea and Beaufort Sea*. Washington, DC, U.S. Department of Commerce, NOAA, NMFS, 40pp.

MYLONAS C.C., G. CARDINALETTI, I. SIGELAKI et A. POLZONETTI-MAGNI, 2005, « Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of European sea bass (Dicentrarchus labrax) and gilthead sea bream (Sparus aurata) at different temperatures », *Aquaculture*, 246, (1–4) : 467-481.

NEIFFER D.L. et M.A. STAMPER, 2009, « Fish sedation, analgesia, anesthesia, and euthanasia: considerations, methods, and types of drugs », *ILAR journal*, 50, (4) : 343-360.

NESSIM, R. B., BASSIOUNY, A. R., ZAKI, H. R., MOAWAD, M. N et KANDEEL, K. M., 2010, « Environmental studies at El-Mex region (Alexandria-Egypt) during 2007-2008. », *World Applied Sciences Journal*, 9, (7) : 779-787.

NIJHOUT H.F. et G. DAVIDOWITZ, 2003, « Developmental Perspectives on Phenitipic Variation, Canalization, and Fluctuating Asymmetry ». *in Developmental Instability: Causes and Consequences*. 19-23. Oxford, Oxford University Press.

NWANNA L.C., I.A. ADEBAYO et B. OMITOYIN, 2008, « Effect of different levels of phosphorus on growth and mineralization in African giant catfish Heterobranchus bidorsalis (Geoffrey Saint Hillarie, 1809 », *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 12, (4).

OLIVEIRA A.M., M. FARINA, I.P. LUDKA et B. KACHAR, 1996, « Vaterite, calcite, and aragonite in the otoliths of three species of piranha », *Naturwissenschaften*, 83, (3) : 133-135.

OOZEKI Y. et Y. WATANABE, 2000, « Comparison of somatic growth and otolith increment growth in laboratory-reared larvae of Pacific saury, Cololabis saira, under different temperature conditions », *Marine Biology*, 136, (2) : 349-359.

ORR H.A., 2009, « Fitness and its role in evolutionary genetics », *Nature reviews. Genetics*, 10, (8) : 531-539.

ØXNEVAD S.A., E. HEIBO et L.A. VØLLESTAD, 2002, « Is there a relationship between fluctuating asymmetry and reproductive investment in perch (Perca fluviatilis)? », *Canadian Journal of Zoology*, 80, (1) : 120-125.

PALMER A.R., 1994, « Fluctuating asymmetry analyses: a primer ». *in* T. A. Markow (éd.): *Developmental Instability: Its Origins and Evolutionary Implications*. Contemporary Issues in Genetics and Evolution. 335-364. Springer Netherlands.

PALMER A.R., 1999, « Detecting Publication Bias in Meta-analyses: A Case Study of Fluctuating Asymmetry and Sexual Selection », *The American Naturalist*, 154, (2) : 220-233.

PALMER A.R. et C. STROBECK, 1986, « Fluctuating Asymmetry: Measurement, Analysis, Patterns », *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17, (1) : 391-421.

PALMER A.R. et C. STROBECK, 1992, « Fluctuating asymmetry as a measurement of developmental stability: Implications of non-normal distributions and power of statistical tests », *Acta Zoologica Fennica*, 191 : 57-72.

PALMER A.R. et C. STROBECK, 2003a, « APPENDIX V Fluctuating-asymmetry analysis: A step-by-step example ». *in Developmental Instability: Causes and Consequences*. 279-319. Oxford, Polak M.

PALMER A.R. et C. STROBECK, 2003b, « Fluctuating asymmetry analysis revisited ». *in Developmental Instability: Causes and Consequences*. 279-319. Oxford, Polak M.

PANNELLA G., 1971, « Fish Otoliths: Daily Growth Layers and Periodical Patterns », *Science*, 173, (4002) : 1124-1127.

PAPATHANASIOU V., S. ORFANIDIS et M.T. BROWN, 2016, « Cymodocea nodosa metrics as bioindicators of anthropogenic stress in N. Aegean, Greek coastal waters », *Ecological Indicators*, 63 : 61-70.

PARMENTIER E., R. CLOOTS, R. WARIN et C. HENRIST, 2007, « Otolith crystals (in Carapidae): Growth and habit », *Journal of Structural Biology*, 159, (3) : 462-473.

PARSONS P.A., 1992, « Evolutionary Adaptation and Stress ». *in Evolutionary Biology*. Evolutionary Biology. 191-223. Springer, Boston, MA.

PETROSILLO I., D. VALENTE, N. ZACCARELLI et G. ZURLINI, 2009, « Managing tourist harbors: Are managers aware of the real environmental risks? », *Marine Pollution Bulletin*, 58, (10) : 1454-1461.

PICHARD A., M. BISSON, R. DIDERICH, C. HULOT, N. HOUEIX, G. LACROIX, J.P. LEFEVRE, S. LEVEQUE, H. MAGAUD, A. MORIN et C. GILLET, 2005a, *Zinc et ses dérivés*. INERIS, 69pp.

PICHARD A., M. BISSON, N. HOUEIX, G. GAY, G. LACROIX, J.P. LEFEVRE, H. MAGAUD, V. MIGNE, A. MORIN, S. TISSOT et C. GILLET, 2005b, *Cuivre et ses dérivés*. INERIS, 66pp.

PIERREL J.-M., W. DEL-MANCINO, L. GOBERT, J.-M. HUMBERT et E. PETITJEAN, 2013a, « STRESS : Définition de STRESS », *Trésor de la langue Française informatisé*.

PIERREL J.-M., W. DEL-MANCINO, L. GOBERT, J.-M. HUMBERT et E. PETITJEAN, 2013b, « Symétrie: Définition de Symétrie », *Trésor de la langue Française informatisé*.

POLAK M., 2003a, *Developmental Instability: Causes and Consequences*, Oxford, Oxford University Press

POLAK M., 2003b, « Introduction ». *in Developmental Instability: Causes and Consequences*. 19-23. Oxford, Oxford University Press.

POLAK M., R. OPOKA et I.L. CARTWRIGHT, 2002, « Response of fluctuating asymmetry to arsenic toxicity: support for the developmental selection hypothesis », *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)*, 118, (1) : 19-28.

POPPER A.N., J. RAMCHARITAR et S.E. CAMPANA, 2005, « Why otoliths? Insights from inner ear physiology and fisheries biology », *Marine and freshwater research*, 56, (5) : 497-504.

RASBAND W., 2012, *ImageJ 1.46*, Bethesda, Maryland, USA, U.S. National Institutes of Health. java

RAVENTÓS N. et E. MACPHERSON, 2001, « Planktonic larval duration and settlement marks on the otoliths of Mediterranean littoral fishes », *Marine Biology*, 138, (6) : 1115-1120.

ROBINSON B.W. et S.L. WARDROP, 2002, « Experimentally Manipulated Growth Rate in Threespine Sticklebacks: Assessing Trade Offs with Developmental Stability », *Environmental Biology of Fishes*, 63, (1) : 67-78.

ROHLF F.J. et R.R. SOKAL, 1995, *Statistical Tables*, New York, W. H. Freeman

ROSS L.G. et B. ROSS éd., 2008a, « Anaesthesia of Fish: I. Inhalation Anaesthesia ». *in Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals*. 69-126. Blackwell Publishing Ltd.

ROSS L.G. et B. ROSS, 2008b, *Anaesthetic and Sedative Techniques for Aquatic Animals, 3rd Edition*, Oxford, Blackwell Publishing

ROSSI N., 2008, « Écologie des communautés planctoniques méditerranéennes et étude des métaux lourds (Cuivre, Plomb, Cadmium) dans différents compartiments de deux écosystèmes côtiers (Toulon, France) ». phdthesis, Université du Sud Toulon Var

RUSSELL B., K.E. CARPENTER et D. POLLARD, 2009, *Oblada melanura, Saddled Seabream*. International Union for Conservation of Nature. The IUCN Red List of Threatened Species 2014, 10pp.

SCHWARTZ J.R., R.G. MARSH et Z.D. DRAELOS, 2005, « Zinc and skin health: overview of physiology and pharmacology », *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery [et Al.]*, 31, (7 Pt 2) : 837-847; discussion 847.

SCOULLOS M., M. PLAVŠIĆ, S. KARAVOLTSOS et A. SAKELLARI, 2006, « Partitioning and distribution of dissolved copper, cadmium and organic matter in Mediterranean marine coastal areas: The case of a mucilage event », *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 67, (3) : 484-490.

SECOR D.H. et J.M. DEAN, 1989, « Somatic Growth Effects on the Otolith–Fish Size Relationship in Young Pond-reared Striped Bass, Morone saxatilis », *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46, (1) : 113-121.

SECOR D.H., J.M. DEAN et E.H. LEBAN, 1992, « Otolith removal and preparation for microstructural examination ». *in* D. K. Stevenson et S. E. Campana (éd.): *Otolith microstructure examination and analysis*. Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences. 19-57. Ottawa, Department of Fisheries and Ocean.

SECOR D.H., J.M. DEAN, A.B. MILLER, J.M. KALISH, R.J. BEAMISH, E.B. BROTHERS, R.I.C.C.F. CASSELMAN, H. MOSEGAARD, J. PANFILI, E.D. PRINCE, R.E. THRESHER, C.A. WILSON et P.J. WRIGH, 1995, « Glossary for Otolith Studies ». *in Recent developments in fish otolith research*. 723-729. Published for the Belle W. Baruch Institute for Marine Biology and Coastal Research by the University of South Carolina Press.

SETTY S.R.G., D. TENZA, E.V. SVIDERSKAYA, D.C. BENNETT, G. RAPOSO et M.S. MARKS, 2008, « Cell-specific ATP7A transport sustains copper-dependent tyrosinase activity in melanosomes », *Nature*, 454, (7208) : 1142-1146.

DA SILVEIRA PETRUCI J.F., P.R. FORTES, V. KOKORIC, A. WILK, I.M. RAIMUNDO, A.A. CARDOSO et B. MIZAIKOFF, 2013, « Real-time monitoring of ozone in air using substrate-integrated hollow waveguide mid-infrared sensors », *Scientific Reports*, 3.

SMITH P.J., S.G. ROBERTSON, P.L. HORN, B. BULL, O.F. ANDERSON, B.R. STANTON et C.S. OKE, 2002, « Multiple techniques for determining stock relationships between orange roughy, Hoplostethus atlanticus, fisheries in the eastern Tasman Sea », *Fisheries Research*, 58, (2) : 119-140.

SOKAL R.R. et F.J. ROHLF, 1995, *Biometry*, 3rd éd., New York, W. H. Freeman

SOMARAKIS S., I. KOSTIKAS, N. PERISTERAKI et N. TSIMENIDES, 1997a, « Fluctuating asymmetry in the otoliths of larval anchovy Engraulis encrasicolus and the use of developmental instability as an indicator of condition in larval fish », *Marine Ecology Progress Series*, 151 : 191-203.

SOMARAKIS S., I. KOSTIKAS et N. TSIMENIDES, 1997b, « Fluctuating asymmetry in the otoliths of larval fish as an indicator of condition: conceptual and methodological aspects », *Journal of Fish Biology*, 51 : 30-38.

SOPINKA N.M., J.L. FITZPATRICK, J.E. TAVES, M.G. IKONOMOU, S.E. MARSH-ROLLO et S. BALSHINE, 2012, « Does proximity to aquatic pollution affect reproductive traits in a wild-caught intertidal fish? », *Journal of Fish Biology*, 80, (6) : 2374-2383.

STRELCHECK A.J., G.R. FITZHUGH, F.C. COLEMAN et C.C. KOENIG, 2003, « Otolith–fish size relationship in juvenile gag (Mycteroperca microlepis) of the eastern Gulf of Mexico: a comparison of growth rates between laboratory and field populations », *Fisheries Research*, 60, (2) : 255-265.

TANG Q., C. WANG, C. XIE, J. JIN et Y. HUANG, 2012, « Dietary Available Phosphorus Affected Growth Performance, Body Composition, and Hepatic Antioxidant Property of Juvenile Yellow Catfish Pelteobagrus fulvidraco », *The Scientific World Journal*, 2012.

TANKÉRÉ S.P.C., N.B. PRICE et P.J. STATHAM, 2000, « Mass balance of trace metals in the Adriatic Sea », *Journal of Marine Systems*, 25, (3–4) : 269-286.

TELLI KARAKOC F., A. HEWER, D.H. PHILLIPS, A.F. GAINES et G. YUREGIR, 1997, « Biomarkers of marine pollution observed in species of mullet living in two eastern Mediterranean harbours », *Biomarkers*, 2, (5) : 303-309.

THIA-ENG C. et A.S. ROSS, 1998, *Marine Pollution Prevention and Management in the East Asian Seas: A Paradigm Shift in Concept, Approach and Methodology*, Quezon City, Philippines, Global Environment Facility/United Nations Development Programme/International Maritime Organization Regional Programme for the Prevention and Management of Marine Pollution in the East Asian Seas

THURÓCZY C.-E., M. BOYE et R. LOSNO, 2010, « Dissolution of cobalt and zinc from natural and anthropogenic dusts in seawater », *Biogeosciences*, 7, (6) : 1927-1936.

TIQUIO M.G.J.P., N. MARMIER et P. FRANCOUR, 2017, « Management frameworks for coastal and marine pollution in the European and South East Asian regions », *Ocean & Coastal Management*, 135 : 65-78.

TOPIC POPOVIC N., I. STRUNJAK-PEROVIC, R. COZ-RAKOVAC, J. BARISIC, M. JADAN, A. PERSIN BERAKOVIC et R. SAUERBORN KLOBUCAR, 2012, « Tricaine methane-sulfonate (MS-222) application in fish anaesthesia », *Journal of Applied Ichthyology*, 28, (4) : 553-564.

TORNAMBÈ A., L. MANFRA, S. CANEPA, F. OTERI, G. MARTUCCIO, A.M. CICERO et E. MAGALETTI, 2016, « Adaptation of the fish juvenile growth test (OECD TG 215, 2000) to the marine species Dicentrarchus labrax », *Ecotoxicology and Environmental Safety*.

TRACEY S.R., J.M. LYLE et G. DUHAMEL, 2006, « Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock identification », *Fisheries Research*, 77, (2) : 138-147.

TSANGARIS C., M. VERGOLYAS, E. FOUNTOULAKI et K. NIZHERADZE, 2011, « Oxidative Stress and Genotoxicity Biomarker Responses in Grey Mullet (Mugil cephalus) From a Polluted Environment in Saronikos Gulf, Greece », *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 61, (3) : 482-490.

TURNER M.A., M.R. VIANT, S.J. TEH et M.L. JOHNSON, 2007, « Developmental rates, structural asymmetry, and metabolic fingerprints of steelhead trout (Oncorhynchus mykiss) eggs incubated at two temperatures », *Fish Physiology and Biochemistry*, 33, (1) : 59-72.

VAN DONGEN S., 2006, « Fluctuating asymmetry and developmental instability in evolutionary biology: past, present and future », *Journal of Evolutionary Biology*, 19, (6) : 1727-1743.

VAN VALEN L., 1978, « The statistics of variation », *Evolutionary Theory*, 4, (1) : 33-43.

VANDENBUSSCHE P., 2011, *Etude comparative des communautés ichtyo planctoniques en zones présentant différents niveaux d'impacts anthropiques le long des côtes méditerranéennes de la péninsule Ibérique (Côte Catalane)*. Loos, Faculté d'Ingénierie et de Management en Santé Publique. Rapport de stage, 36pp.

VANDENBUSSCHE P.S.P., G. SPENNATO, P. FRANCOUR et P.M. PIERSON, 2017, « Validation of a simple and well-suited chemical cleaning method for fish otoliths », *Acta Zoologica* : n/a-n/a.

VAUCLIN M., P. MONFRAY et A. TOURNIER, 2013, *Environnement et Changements Globaux : des aléas à la vulnérabilité des sociétés*. Agence Nationale de la recherche. Rapport de l'ANR, 191pp.

VERGÉ X., A. CHAPUIS et M. DELPOUX, 2002, « Bioindicator reliability: the example of Bel W3 tobacco (Nicotiana tabacum L.) », *Environmental Pollution*, 118, (3) : 337-349.

VØLLESTAD L.A., E. FJELD, T. HAUGEN et S.A. OXNEVAD, 1998, « Developmental instability in grayling (Thymallus thymallus) exposed to methylmercury during embryogenesis », *Environmental Pollution*, 101, (3) : 349-354.

VØLLESTAD L.A. et K. HINDAR, 2001, « Developmental stability in brown trout: are there any effects of heterozygosity or environmental stress? », *Biological Journal of the Linnean Society*, 74, (3) : 351-364.

VØLLESTAD L.A., K. HINDAR et A.P. MØLLER, 1999, « A meta-analysis of fluctuating asymmetry in relation to heterozygosity », *Heredity*, 83, (2) : 206-218.

WACQUANT C. et V. LAMARE, 2016, « Oblada melanura (Linnaeus, 1758) », *DORIS Données d'Observations pour la Reconnaissance et l'Identification de la faune et de la flore Subaquatique*.

WADDINGTON C.H., 1957, *The strategy of the genes: a discussion of some aspects of theoretical biology*, Allen & Unwin

WARWICK R.M., H.M. PLATT, K.R. CLARKE, J. AGARD et J. GOBIN, 1990, « Analysis of macrobenthic and meiobenthic community structure in relation to pollution and disturbance in Hamilton Harbour, Bermuda », *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 138, (1) : 119-142.

WILKINS N.P. et E. GOSLING, 1995, « Fluctuating asymmety in Atlantic salmon, European trout and their hybrids, including triploids. Aquaculture 137, 77-85 », *Aquaculture*, 137, (1-4) : 77-85.

YOON Y.-Y., J.-M. MARTIN et M.H. COTTÉ, 1999, « Dissolved trace metals in the Western Mediterranean Sea: total concentration and fraction isolated by C18 Sep-Pak technique », *Marine Chemistry*, 66, (3–4) : 129-148.

ZAPATA F., 2004, *Use of phosphate rocks for sustainable agriculture*, Rome, FAO Land and Water Development Division and the International Atomic Energy Agency

Annexes

Annexe I : Composition du sel *Instant Ocean*

Ces résultats ont été obtenus par Atkinson et Bingman [83], ces auteurs les ont ajustés pour correspondre à une salinité de 35 ppt à une température de 25°C et une densité de 1,023 $Kg.L^{-1}$. Les résultats sont exprimés en $mmol.Kg^{-1}$.

		Eau de mer	Instant Ocean
Cations majeurs	**Na^{+}**	470	462
	K^{+}	10,2	9,4
	Mg^{+2}	53	52
	Ca^{+2}	10,3	9,4
	Sr^{+}	0,09	0,19
Anions majeurs	**Cl^{-}**	550	521
	SO_4^{-2}	28	23
	CO_2 Total	1,9	1,9
Nutriments	**PO_4^{-3}**	2,0E-4	5,0E-5
	NO_3^{-}	2,0E-4	1,0E-3
	NH_4^{+}	2,0E-4	1,0E-2
	SiO_3^{-3}	5,0E-3	4,2E-3
	Phosphate organique dissout	2,0E-4	1,0E-4
	Azote organique dissout	1,0E-2	2,9E-3
	Carbone organique dissout	5,0E-2	2,9E-2
	pH	8,3E-3	8,4E-3
	Alcalinité totale	2,3E-3	2,3E-3
Eléments trace	**Li**	2,0E-2	5,4E-2
	Si	5,0E-3	1,6E-2
	Mo	1,0E-4	1,8E-3
	Ba	4,0E-5	8,5E-4
	V	4,0E-5	2,9E-3
	Ni	4,0E-6	1,7E-3
	Cr	3,0E-6	7,5E-3
	Al	2,0E-6	2,4E-1
	Cu	1,0E-6	1,8E-3
	Zn	1,0E-6	5,0E-4
	Mn	4,0E-7	1,2E-3
	Fe	1,0E-7	2,4E-4
	Cd	1,0E-7	2,4E-4
	Pb	6,0E-8	2,1E-3
	Co	5,0E-8	1,3E-3
	Ag	1,0E-8	2,3E-3
	Ti	1,0E-8	6,7E-4

Annexe II : Efficacité de filtration (fiche fabricant)

PUREPRO
DRINKING WATER SYSTEM

Estimated Percent Rejection of Various Solutes by PUREPRO Membranes

In order to assist customers in estimating the rejection of PUREPRO FT30 membranes, tests have been performed with a variety of solute compounds. The results of these tests are indicated as a % rejection for each compound listed in the tables below.
Actual system performance may vary from the listed data, particularly with changes in feedwater concentration, pH, and temperature.
For this reason, these tables should be used as a quick screen. Pilot trials should be performed to determine actual rejection in a specific application.

Solute	MW	Rejection, %
1,1,1-Trichloroethane	133	98
1,2 Dibromoethane	173	15
1,2 Dichloroethane	99	37
1,2,3-Trichlorobenzene	181	>57
1,2,4-Trichlorobenzene	181	96
1,2,4-Trimethylbenzene	120	57
1,2-Dichlorobenzene	147	70-92
1,3-Dichlorobenzene	147	66-69
1,4-Dichlorobenzene	147	61
1-Chlorododecane	204	87
1-Methylnaphthalene	142	67
2,2',5,5' Tetrachlorobiphenyl	290	46
2,4,6-Trichlorophenol	197	100
2,4-Dichlorophenol	163	93
2,6 Dimethylphenol	122	92
2,6-Di-Tert-Butyl-4-Methylphenol	220	96
3,8 Dimethyphenol	122	92
3-Hydroxy-Capric Acid	188	>98
3-Pentanone	86	74
4-Ethylphenol	122	84
4-Isopropylphenol	136	84
5-Chlorouracil	146	88
Acetic Acid	60	45
Acetone	58	70
Aluminum Nitrate	213	86
Aluminum Sulfate	342	89
Aniline	93	64-75
Anthraquinone	208	93
Benzene	78	7819
Benzoic Acid	122	92
Benzothiazole	133	79
Biphenyl	154	91
Bis (2-Ethylhexyl) Phthalate	390	94
Boric Acid	230	
Bromodichloromethane	163	79
Bromoform	94	>67
Cadmium Sulfate	208	97
Caffeine	174	99
Calcium Chloride	111	99
Calcium Nitrate	164	95
Carbon Tetrachloride	153	98
Cesium Chloride	168	97
Chlorobenzene	112	0-50
Chlorofoam	50	71-90
cis-1,2 Dichloroethylene	97	20
Clofibric Acid	214	>99
Copper Sulfate	160	99
Cyclohexanone	98	95
Dibromochloromethane	208	79
e-Caprolactum	113	85
Ethanol	46	38-70
Ethyl Benzene	106	71
Formaldehyde	30	35

Solute	MW	Rejection, %
Furfural	96	35
Glucose	180	98-99
Glycine	188	78
Heptaldehyde	114	100
Humic Acid		98
Hydrochloric Acid	36	28
Isophorone	138	96
Isopropanol	60	90
Lactic Acid (ph2)	90	94
Lactic Acid (ph5)	42	99
Magnesium Chloride	120	98
Magnesium Sulfate	120	99
Manganese (II) Sulfate	151	97
Methanol	32	25
Methl Ethyl Ketone	72	73
Methyl Isobutyl Keytone	100	98
Naphthalene	128	80
Nickel Chloride	130	96-99
Nickel Sulfate	155	97-99
o-Cresol	108	84
o-Xylene	106	67
p & m Xylene	106	38
Pentachlorophenol	266	86
Phenol - 80%	94	65
Phosphoric Acid	96	94
Quinoline	129	97
Silica	60	98
Sodium Acetate (1%)	82	88
Sodium Bicarbonate	84	98
Sodium Bromide	103	96
Sodium Chloride	58	99
Sodium Cyanide	49	95
Sodium Di-H Phosphate	120	98
Sodium Fluoride	42	98
Sodium Hydrogen Sulfate	120	76
Sodium Iodide	150	97
Sodium Mono-H Phosphate	142	98
Sodium Nitrate	85	93-98
Sodium Orthophosphate	164	99
Stearic Acid	204	71
Strontium Chloride	158	96
Succinic Acid	118	35
Sucrobe	342	99
Sulfuric Acid	98	84
Tetrachloroethylene	165	68-80
Tin (II) Sulfate	215	85
Tributyl Phosphate	266	49
Trichloroethylene	131	30-43
Trimesic Acid	210	96
Urea	60	70
Zinc Chloride	136	93
Zinc Sulfate	161	98

Annexe III : Evolution des conditions expérimentales

Infrastructure

La salle dédiée aux aquariums est thermorégulée à l'aide de 2 climatiseurs situés aux deux extrémités de la pièce, à 1,60 m du sol. La partie dédiée aux poissons (B) dispose de 2 m linéaire de paillasse. Un schéma de cette salle est présenté sur la Figure A-0-1 ci-dessous.

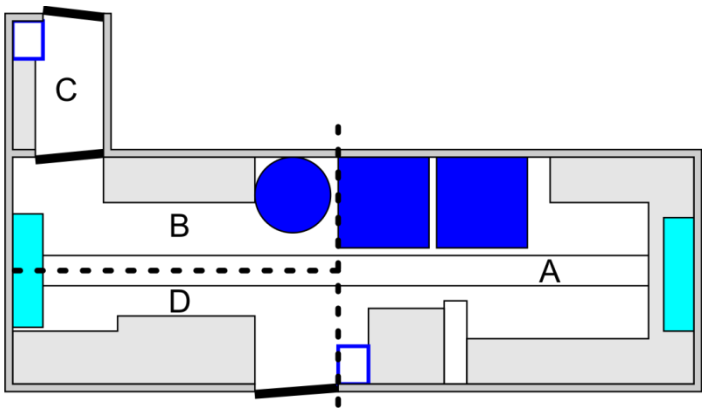


Figure A-0-1 : Plan de la pièce d'expérimentation.
Climatiseurs en cyan ; éviers en blanc entouré de bleu ; stockage d'eau de mer en bleu ; paillasses en gris. Zone A : autre Laboratoire ; Zone B : ECOMERS, modèle poisson ; Zone C : zone commune de préparation ; Zone D : ECOMERS, modèle mollusques bivalves.

Installations successives

L'espace sous paillasse est occupé d'une part par la pompe fournissant l'aération de l'ensemble des bacs et d'autre part par les consommables (sel pour eau de mer de synthèse) et le petit matériel nécessaire à l'entretien des bacs. De plus un réservoir circulaire de 280 litres est utilisé pour préparer et stocker l'eau de mer de synthèse.

Installation initiale

Dans un premier temps, cet espace limité a été suffisant pour l'installation de 9 bacs d'expérimentation de 10 litres et 3 bacs "de réserve" de 20 litres (Figure A-0-2).



Figure A-0-2: Photographie de l'installation utilisée lors de la première expérimentation.

L'eau utilisée était alors de l'eau de mer de synthèse réalisée à partir d'eau de ville et de sels d'eau de mer. Le choix de l'eau de ville, ici sans notre système de traitement, a été effectué sur la base du retour d'expérience des personnes travaillant sur la thématique écotoxicologie sur mollusques bivalves. L'eau de ville était tout d'abord placée dans le réservoir de 280 litres où elle était fortement aérée pendant 24 heures afin d'éliminer le chlore libre introduit lors des processus de potabilisation. Cette eau était ensuite amenée à une concentration de 38 $g.l^{-1}$ de sels d'eau de mer. Les changements d'eau étaient effectués quotidiennement à l'aide d'un siphon pour aquarium placé dans une cage grillagée (7 cm x 7 cm x 26 cm) recouverte de toile de nylon à maillage fin (type tulle) : la moitié du volume du bac était vidée, l'eau était ensuite ramenée à son volume initial, le plus délicatement possible, à l'aide d'un bécher.

Installation avec alimentation en eau en continu

Puis, à la lumière des enseignements tirés de l'expérience précédente, tout l'espace de travail a été revu pour minimiser le plus possible le stress lié aux conditions expérimentales. Un système d'alimentation en eau en continu a alors été mis en place. L'installation comprenait des réservoirs de solutions de contaminants concentrés et d'eau de mer de dilution au-dessus des bacs, ainsi qu'un système d'évacuation du trop-plein d'eau de chaque bac, suivant le principe présenté à la Figure A-0-3.

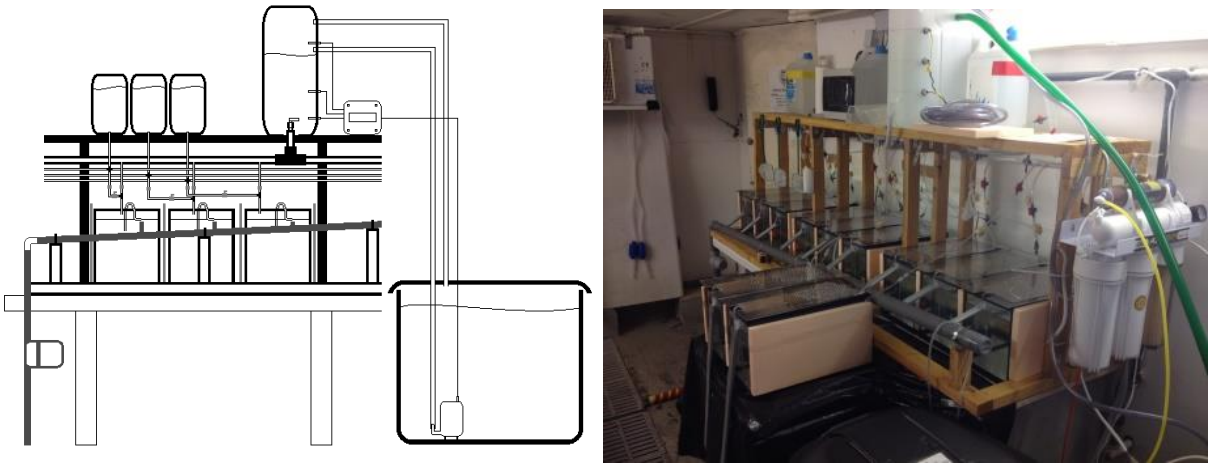


Figure A-0-3 : Installation expérimentale à renouvellement en eau en continu.
Partie gauche : schéma du principe du système d'alimentation en eau en continu. Les deux plus grands réservoirs contiennent de l'eau de mer servant à diluer les contaminants des petits réservoirs.
Partie droite : Photographie de l'installation. Elle comprenait 9 aquariums d'expérimentation, 2 aquariums de réserve placés de manière transitoire sur une table située en avant de la paillasse, un osmoseur, deux réservoirs d'eau (hors cadre) et un système d'alimentation en eau en continu.

Cette modification de l'espace de travail a changé l'organisation des bacs. Seuls des bacs de 10 litres disposés parallèlement les uns aux autres ont été maintenus sur la paillasse. Les

bacs "de réserve" de 20 litres ont été remplacés par deux bacs identiques aux autres (10 litres) et placés sur une table devant la paillasse (Figure A-0-3).

Les deux grands côtés de chaque aquarium ont été couverts par des plaques de polystyrène extrudé. En effet, comme indiqué en Figure A-0-1**,** les climatiseurs étant aux deux extrémités de la pièce, les aquariums placés à proximité de ces installations étaient soumis à un flux permanent d'air froid pouvant entraîner une différence de température entre les bacs. L'utilisation de ces plaques opaques permettait aussi d'isoler visuellement les aquariums pour les poissons.

Afin d'améliorer la qualité des installations, nous avons acquis un osmoseur. En effet, l'eau du robinet ne convenait pas à l'expérimentation en raison de la présence certaine de sédiments et de celle supposée d'oxydes métalliques (le dosage n'a pas été effectué) révélées par des observations répétées.

Deux réservoirs permettaient alors de disposer en permanence d'eau de mer de synthèse, l'un de 100 litres servant à préparer et stocker de l'eau osmosée (production lente d'environ 6 heures pour 100 litres), l'autre de 280 litres pour l'eau de mer préparée.

Un système de renouvellement en continu de l'eau des bacs a été mis en place (Figure A-0-3). Ce système comprenait une pompe de relevage (Comet, réf : Tauchpumpe ELEGANT) reliée à un réservoir équipé de capteurs de niveau permettant le déclenchement de la pompe lorsque le volume d'eau de ce réservoir passait sous le niveau minimum et son arrêt lorsque le niveau atteignait le niveau maximum. Cela était rendu possible grâce à un boîtier de commande réalisé à l'aide d'un boîtier étanche, d'un disjoncteur (DEBFLEX, phase + neutre 2 ampères), d'un régulateur de niveau électronique (Perry Electric, réf : 1CLRLE230/2), de trois sondes de niveau, d'un télérupteur (DEBFLEX, réf : 707382) et d'un transformateur (COMATEC, réf : TBD2/AL.0100.24/F6). Le réservoir était raccordé aux aquariums à l'aide de tubes en PVC transparent de qualité alimentaire (GEOLIA, Cristal 6 mm). Le débit arrivant aux aquariums était maintenu à l'aide de régulateur de débits médicaux (Asept In.med, DOSI-FLOW 1 SY), chacun précédé d'un robinet d'arrêt (GARDENA, vanne d'arrêt 4,6 mm (3/16")) pour faciliter la maintenance du système.

L'alimentation en contaminants était effectuée en parallèle à l'aide de 3 réservoirs dédiés et raccordés à un système de distribution similaire à celui de l'eau de mer (tubes en PVC,

robinets d'arrêt, régulateurs de débit), chacun des réservoirs alimentant 3 bacs. Les deux systèmes d'alimentation (eau de mer et un des contaminants) se rejoignaient au niveau de chaque bac à l'aide d'un raccord en T (GARDENA, Dérivation en T 4,6 mm (3/16")) prolongé de 20 centimètres de tuyau en PVC permettant un mélange des deux solutions.

Les bacs alimentés étaient équipés d'un trop-plein permettant de maintenir constant leur volume. Ce trop-plein était constitué d'un tube en PVC fixé au fond du bac à l'aide d'un point de silicone d'aquariophilie (silicone "SA 500" de la marque ZOLUX). Ces trop-pleins se déversaient dans une gouttière prévue à cet effet située en bordure de paillasse. Cette gouttière était reliée à un filtre à charbon actif prévu pour retenir les contaminants avant rejet dans les égouts.

Installation avec alimentation en eau à faible débit

Suite à une défaillance des régulateurs de débit, l'ensemble du système d'alimentation en eau en continu a dû être repensé.

En parallèle, afin d'augmenter l'espace disponible pour installer un maximum d'aquariums de test, nous avons acquis une table mobile équipée de deux plateaux permettant l'utilisation d'aquariums supplémentaires (Figure A-0-4). Nous avons donc fait l'acquisition de 4 nouveaux aquariums, légèrement différents du modèle d'origine qui n'est plus fabriqué, mais de même volume.

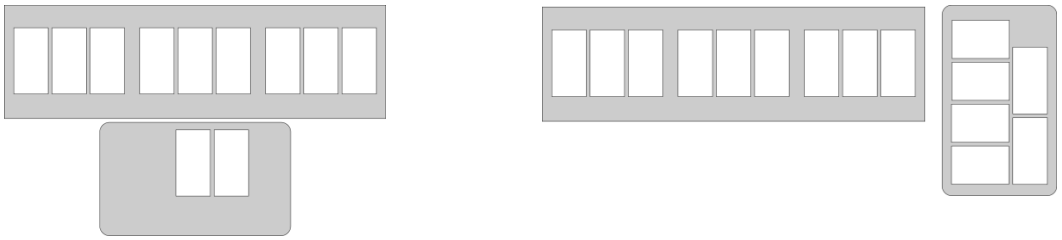




Figure A-0-4 : Installations améliorée et finale.
Partie supérieure : gauche, répartition de 11 aquariums en 2014 ; droite, répartition de 15 aquariums dans la disposition actuelle. Dans cette disposition les 4 aquariums placés horizontalement sur ce schéma sont de dimensions légèrement différentes mais de même volume.
Partie inférieure : photographie de l'installation finale.

Le choix pour la nouvelle alimentation en eau a été de procéder à un principe de renouvellement d'eau intermédiaire aux deux expérimentations précédentes : l'alimentation à faible débit a été maintenue pour limiter le stress ressenti par les poissons lors des changements d'eau, mais le débit continu a été abandonné au profit d'un changement quotidien de la moitié du volume des aquariums (5 litres) sur une courte période (30 à 45 minutes par aquarium). Pour faciliter ces changements d'eau, un réservoir de 10 litres a été attribué à chaque bac pour permettre 2 jours d'autonomie. Bien que plus contraignante que celles précédemment présentées (environ 2 heures d'intervention quotidienne durant les 15 jours de l'expérimentation), cette technique permet un renouvellement efficace de l'eau tout en minimisant le stress lié aux interventions directes dans les bacs (comme pour le renouvellement en continu, l'expérimentateur n'a pas à intervenir dans les aquariums).

Le tuyau en PVC faisant office de trop-plein a aussi été remplacé par une canne rigide d'aquariophilie de forme fixe. La canne rigide a une forme aplatie à l'extrémité plongeant dans le bac (rendant impossible la pénétration d'un poisson dans la canne), et sa forme coudée permet de la poser sur le rebord du bac. La canne n'étant plus fixée au bac, les poissons passent sans risque entre elle et la paroi de l'aquarium. La mise en place de cette canne a fait disparaître les cas de morts liés au trop-plein.

Annexe IV : Script de mesure automatisée sous ImageJ

Ce script a été écrit pour une paire d'otolithes placée de manière standard comme décrit dans ce travail. Il permet de traîter l'ensemble des images d'un dossier désigné et de sauvegarder le résultat sous la forme d'un fichier ".xls" dans un dossier spécifié.

Pour être utilisé, ce script doit être enregistré sous la forme d'un fichier texte (.txt) et placé parmi les plugins d'ImageJ, le chemin d'accès de ce dossier doit ressembler à : "Disque": \Program Files\ImageJ\plugins\"Sous dossier"

De plus pour fonctionner le nom du fichier texte ne doit pas comporter d'espace mais des soulignements (underscore / "tiret du 8") "_"

Une fois correctement installé le plugin apparaîtra dans le menu Plugins > Sous dossier

```
function isImage(filename) {
  extensions = newArray("tif", "tiff", "jpg", "bmp");
  result = false;
  for (i=0; i<extensions.length; i++) {
    if (endsWith(toLowerCase(filename), "." + extensions[i]))
      result = true;
  }
  return result;
}

inputFolder = getDirectory ("Input Directory");
outputFolder = getDirectory ("Output Directory");
setBatchMode(true);
images = getFileList(inputFolder);

for (i=0; i<images.length; i++) {
  inputPath = inputFolder + images[i];
  if (isImage(inputPath)) {
    open(inputPath);
    dir= File.getParent(inputPath);
    run("Set Scale...", "distance=381 known=100 pixel=1 unit=µm");
    run("Brightness/Contrast...");
    setMinAndMax(128, 128);
    call("ij.ImagePlus.setDefault16bitRange", 0);
    run("Apply LUT");

    getDimensions(width, height, channels, slices, frames);
    doWand(width/4,height/2);
    run("Copy");
    newImage("Untitled", "8-bit White", 6000, 6000, 1);
    run("Paste");
    run("Select All");
    run("Rotate... ", "angle=90 grid=1 interpolation=None");
    rename(images[i]+ "_R");
    doWand(3000,3000);
    run("Measure");
      run("Select All");
      a = getResult("Angle", i*2);
      b = (180 + a);
      run("Rotate... ", "angle=b grid=1 interpolation=None");
      doWand(3000,3000);
      IJ.deleteRows(i*2, i*2);
    run("Set Scale...", "distance=381 known=100 pixel=1 unit=µm");
    run("Measure");
    close();


    getDimensions(width, height, channels, slices, frames);
    doWand(width/1.333,height/2);
    run("Copy");
    newImage("Untitled", "8-bit White", 6000, 6000, 1);
    run("Paste");
```

```
    run ("Select All");
    run("Rotate... ", "angle=90 grid=1 interpolation=None");
    rename(images[i]+ "_L");
    doWand(3000,3000);
     run("Measure");
          run("Select All");
      a = getResult("Angle", (i*2)+ 1);
      b = (180 + a);
      run("Rotate... ", "angle=b grid=1 interpolation=None");
      doWand(3000,3000);
      IJ.deleteRows((i*2)+ 1, (i*2)+ 1);
    run("Set Scale...", "distance=381 known=100 pixel=1 unit=µm");
    run("Measure");
    close();


    close();
  }
}
setBatchMode(false);
dirName = File.getName(dir);
name= dirName + ".xls";
if(File.exists(outputFolder+name)== 1 ){saveAs("results", outputFolder+dirName+"1"+".xls");};
if(File.exists(outputFolder+name)== 0 ){saveAs("results", outputFolder+name);};
if (isOpen("Results")) {
  selectWindow("Results");
  run("Close");
};
exit()
```

Annexe V : Expérimentations *in aquaria* complémentaires

Croissance

Notre première expérimentation avait pour objectif la détermination de la possibilité du maintien en nos aquariums de *D. labrax*, ainsi que la recherche de l'influence des conditions de ce maintien sur le niveau d'asymétrie des otolithes. Cela avait pour but de déterminer si une augmentation significative de l'AF est à attendre d'une part en raison du maintien en aquarium, d'autre part en raison de la croissance des individus.

400 individus âgés de 42 jours ont été utilisés après adaptation à l'osmolarité de l'eau de mer artificielle. Ils ont été répartis à 40 individus par bac expérimental, dans 9 bacs au total, les individus étant maintenus 0, 5, 7 ou 10 jours.

Mortalité

Table A-1 : *Dicentrarchus labrax*, suivi de croissance, suivi de mortalité.
Chaque case barrée indique que le bac correspondant n'est plus en cours d'expérimentation.
Le bac 0 est sacrifié le jour de réception.

	Âge	Bacs										
		0	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**Total**
J + 1	**43 J**						1	5	6	8		20
J + 2	**44 J**		1			1				1		3
J + 3	**45 J**									1		1
J + 4	**46 J**											0
J + 5	**47 J**					1	1					2
J + 6	**48 J**											0
J + 7	**49 J**											0
J + 8	**50 J**											0
J + 9	**51 J**								1		2	3
J+ 10	**52 J**											0
	Total	0	1	0	0	2	2	5	7	10	2	29

Concernant les données de mortalité présentées dans la Table A-1, la colonne 0 correspond aux poissons directement collectés à la réception, les colonnes 1, 2 et 3 correspondent aux bacs récoltés à J + 5, les colonnes 4, 5 et 6 aux bacs récoltés à J + 7 et les colonnes 7, 8 et 9 aux bacs récoltés à J + 10. Un pic de mortalité apparaît clairement à J +1, avec un total de vingt décès répartis dans quatre bacs (5 : 1 ; 6 : 5 ; 7 : 6 ; 8 : 8).

Morphologie des individus

Comme indiqué plus avant, il est possible d'utiliser les données morphologiques obtenues lors de la dissection pour effectuer une première analyse complémentaire aux données d'asymétrie. Pour ce faire, quatre paramètres ont été utilisés : la taille totale (TT), la longueur standard (LS), le poids et un indice de condition (K) basé sur le poids et la LS.

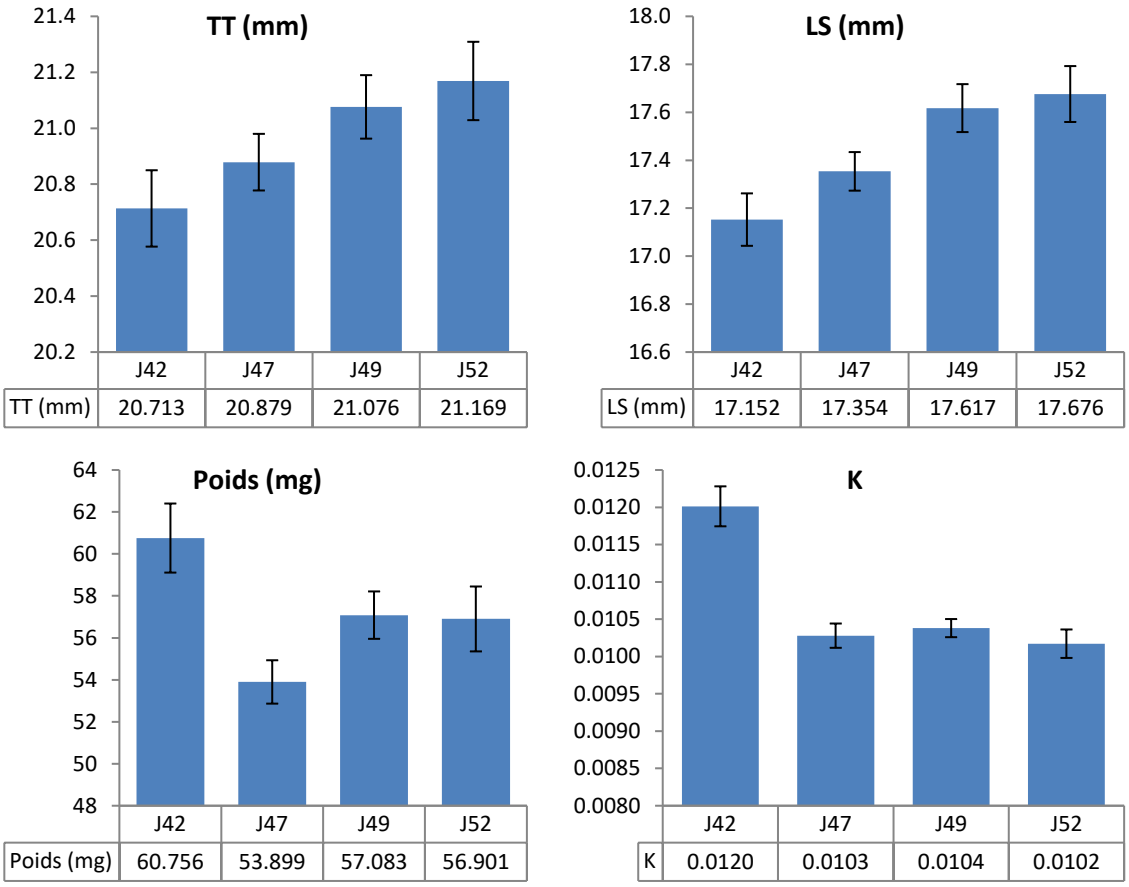


Figure A-0-5 : *Dicentrarchus labrax*, suivi de croissance, variables morphologiques par âges, de 42 à 52 jours. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne de la série ± SE.

Une première observation des graphiques des différentes valeurs moyennes des paramètres morphologiques en fonction des âges des poissons (Figure A-0-5) nous permet de constater une tendance à l'augmentation des valeurs avec l'âge concernant les tailles (TT et LS). Le poids ne suit pas la même tendance : après une diminution de sa valeur moyenne entre le 42ème et le 47ème jour, nous observons une augmentation de sa valeur moyenne au 49ème jour, valeur qui restera stable jusqu'au 52ème jour. Finalement l'indice K suit un profil proche de celui du poids avec une diminution de sa valeur au 47ème jour, valeur qui restera stable jusqu'au 52ème jour.

Afin de déterminer s'il existe une différence statistiquement significative entre les différents âges, un test de comparaison des moyennes a été utilisé. Après vérification des conditions d'utilisation des tests paramétriques, il est apparu que d'après le test de Kolmogorov-Smirnov, la condition de normalité n'est pas respectée pour la TT au 42ème jour ($p<0,05$), au 47ème jour ($p<0,05$) et au 49ème jour ($p<0,05$) ; de même cette condition n'est pas respectée pour la LS au 42ème jour ($p<0,05$) ainsi qu'au 47ème jour ($p<0,05$). Une ANOVA aurait toutefois pu être envisagée pour le poids et l'indice K, cependant la condition

d'homoscédasticité n'est pas respectée entres les différents âges pour ces paramètres (test de Levene, poids : p= $4{,}712.10^{-2}$; K : p=$6{,}709.10^{-3}$). Afin de comparer les moyennes des différents âges pour chaque paramètre, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé ici. Des différences statistiquement significatives entre les différents âges ont été identifiées pour la LS (p=$1{,}7.10^{-3}$), le poids (p=$4{,}3.10^{-3}$) et l'indice K (p<10^{-6}). Hormis pour la TT, ces résultats correspondent aux observations effectuées graphiquement.

Analyses de l'asymétrie

Suite au suivi de croissance de *D. labrax in aquaria*, nous avons mesuré l'asymétrie de plusieurs paramètres pour les otolithes de ces poissons : l'aire, le périmètre, le grand et le petit diamètres de la *best fit ellipse*.

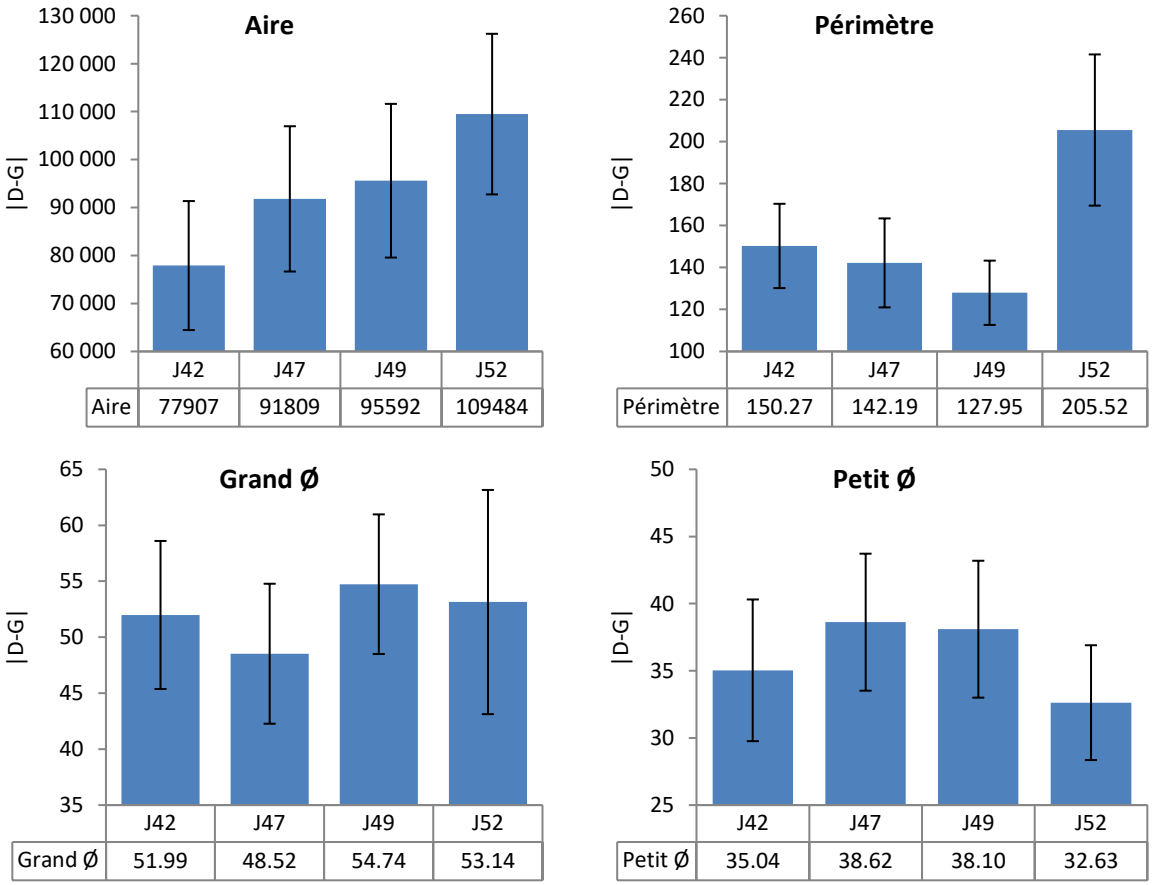


Figure A-0-6 : *Dicentrarchus labrax*, suivi de croissance, asymétrie absolue (indice FA1) par paramètre. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne de la série en pixels ± SE.

Une première observation des valeurs moyennes d'asymétrie absolue, indice FA1 (moyenne |D-G|), fait apparaître une tendance à l'augmentation de l'asymétrie de l'aire et du périmètre des *sagittae* avec l'âge des individus (Figure A-0-6). Cette tendance est toutefois différente pour ces deux paramètres, l'augmentation de l'asymétrie de l'aire semblant régulière entre le 42ème et le 52ème jour, alors que celle du périmètre semble relativement

stable ente le 42ème et le 49ème jour pour brusquement augmenter entre le 49ème et le 52ème jour. À la vue des barres d'erreur standard, ces différences ne semblent pas significatives. Concernant les deux diamètres de la BFE, aucune tendance ne semble se dessiner.

Les données brutes présentées ci-dessus (Figure A-0-6) ne prennent pas en compte l'acroissement significatif de taille mesuré lors de ce suivi de croissance. Pour l'analyse statistique des données, dans un premier temps étudions les conditions permettant de qualifier l'asymétrie mesurée comme étant dite "fluctuante", en passant donc à l'indice FA2, $\text{moyenne}\left(\frac{|D-G|}{\left(\frac{D+G}{2}\right)}\right)$, pour tenir compte des différences de tailles inter-individuelles. Nous constatons que pour chacun des paramètres mesurés dans chacune des conditions (en fonction des âges mais aussi des bacs), les conditions de normalité et d'absence d'AD (sauf dans le cas du grand diamètre à l'âge de 47 jours, p=0,035) sont vérifiées. Nous pouvons donc parler d'AF. L'homoscédasticité des différentes variables étant vérifiée, une comparaison des moyennes des différentes conditions a donc été effectuée à l'aide d'une ANOVA à 1 facteur. Deux facteurs ont été analysés de manière indépendante, le facteur âge dans un premier temps, suivi du facteur bac. Quel que soit le paramètre utilisé, aucune différence significative entre les asymétries moyennes n'a été identifiée, que ce soit entre les classes d'âge ou entre les bacs.

Interprétation de ces résultats

La forte mortalité constatée à J + 1 (qui sera retrouvée dans les expériences suivantes) correspond au pic de mortalité systématiquement observé après transfert dans les bacs. Le niveau particulièrement élevé (20 individus) peut s'expliquer par la jeunesse des poissons utilisés (42 jours) en comparaison des expérimentations suivantes (52,33 jours en moyenne), ce qui a pu induire une plus grande fragilité malgré le soin apporté à leur manipulation. La mortalité au cours du maintien en aquarium compte tenu de ce pic initial est de (29/360) 8,055%, ou si nous ne tenons pas compte de la mortalité de J + 1 de (9/340) 2,65%. Ce pourcentage est acceptable.

Du point de vue des paramètres morphologiques mesurés, l'augmentation de taille observée entre le 42ème et le 52ème jour correspond à une croissance de 2,2%, et le poids est diminué, ce qui à cet âge est très inférieur aux 27% de croissance en 10 jours estimés d'après des données graphiques de Girin et Person-Le Ruyet (Girin & Person-Le Ruyet, 1977). Il est

possible de soupçonner ici un problème lié à la distribution de nourriture étant donné que, bien que volontairement distribuée en excès, cette distribution est effectuée une seule fois par jour. Ceci peut expliquer la diminution de poids moyen observée entre le 42ème et le 47ème jour suivie d'une légère augmentation de poids entre le 47ème et le 49ème jour. Concernant les variations de l'indice K, elles sont en accord avec celles du poids, ce qui est logique étant donné sa méthode de calcul.

Concernant l'asymétrie, nous nous trouvons dans le cas d'une asymétrie dite fluctuante. Dans ces conditions de maintien en aquarium, cette AF ne semble pas varier avec l'âge du point de vue statistique, malgré une augmentation de l'asymétrie moyenne de près de 41% entre J0 et J + 10 pour l'aire. Nous n'avons pas non plus d'effet significatif du bac, ce qui valide nos conditions/dispositions des aquariums.

En conclusion, nos conditions de maintien semblent donc correctes et n'entraînent pas, en l'absence de contaminant, d'augmentation significative de l'AF.

Faisabilité de tests de polluants

Lors de cette expérimentation l'objectif était de valider les conditions pour tester les effets de polluants, tels que du chlorure de cuivre d'une part et du phosphate de sodium d'autre part, sur le niveau d'asymétrie des otolithes, en utilisant des concentrations obtenues depuis la littérature.

Comme nous l'avions fait pour le phosphate et le zinc, nous allons commencer cette partie par une présentation du cuivre.

Cuivre

Contenu dans de nombreuses protéines dont des enzymes (Frieden, 1976; Fontecave & Pierre, 1998; Setty *et al.*, 2008), le cuivre, comme tout oligoélément, devient toxique en cas d'excès. C'est sa toxicité qui est recherchée en milieu aquatique dans le cadre de son utilisation dans des peintures de type antifouling (Knauer *et al.*, 1997).

C'est un métal relativement commun de l'écorce terrestre avec une abondance de 70 $mg.kg^{-1}$ (Fleischer, 1953). Selon l'ATSDR, les concentrations médianes dans les sols et sédiments de 541 sites étudiés lors du "National Water-Quality Assessment Program" (USA) étaient comprises entre 5 et 70 $mg.kg^{-1}$ de poids sec. Selon ces mêmes travaux, les concentrations naturelles dans l'eau de mer étaient comprise entre 1 et 5 $\mu g.l^{-1}$ (ATSDR, 2004).

En Méditerranée, une part importante des apports naturels de cuivre est à rechercher du côté des cours d'eau (68% des apports sont liés à l'érosion des sols par les cours d'eau (Pichard *et al.*, 2005b)) et du transport atmosphérique de poussières sahariennes (Guerzoni *et al.*, 1997; Pichard *et al.*, 2005b; Rossi, 2008). Des apports importants sont observables au niveau des côtes lors de fortes précipitations : celles-ci ruissellent jusqu'à la côte, emportant au passage les éléments qu'elles ont lessivés sur les sols et dans l'atmosphère (Rossi, 2008).

Les activités anthropiques accroissent ces sources "naturelles". C'est par exemple le cas des peintures antifouling qui, depuis l'interdiction des peintures au tributylétain, ont vu l'utilisation d'oxyde de cuivre se généraliser et ont entraîné une augmentation des concentrations de cuivre dans les écosystèmes (Claisse & Alzieu, 1993; Rossi, 2008). Enfin, selon l'INERIS, sur les 32% des apports en cuivre dans les eaux non liés à l'érosion des sols par les cours d'eau, 13% seraient liés à la contamination au sulfate de cuivre (agriculture entre autres sources) et le reste serait au moins en partie imputable aux rejets d'eaux usées (Pichard *et al.*, 2005b).

En Méditerranée, les concentrations relevées dans la littérature vont de 0,06 $\mu g.l^{-1}$ au Nord-Est de Pantelleria (1998) (Censi *et al.*, 2002) à 10,75 $\mu g.l^{-1}$ en avril 2007 en Egypte à environ 60 km au large du port de Damiette (Faragallah *et al.*, 2009). La Table A-2 liste plusieurs études s'étant intéressées principalement aux concentrations de cuivre en Méditerranée. La Table A-3 présente les résultats de mesures effectuées sur les quantités de cuivre relâchées par plusieurs peintures antifouling dans l'eau de mer (Karlsson *et al.*, 2010).

Table A-2 : Liste d'études traitant du cuivre dissous en Méditerranée.
*** : données d'après graphique.**

Date de prélèvement	Pays	Site	Cu dissous en µg.l^{-1}	Référence
1974	France-Monaco-Italie	Sète à Genova	0* – 21,6	(Fukai & Huynh-Ngoc, 1976)
1992-1993	EU	Détroit de Sicile	0,10 - 0,14	(Yoon *et al.*, 1999)
		Mer d'Alboran	0,08	
1994-1995	Italie	Mer Adriatique	2,63 - 3,65	(Tankéré *et al.*, 2000)
1998	Italie	Golf de Gela	0,47 - 1,73	(Censi *et al.*, 2002)
	Italie, Ile de Pantelleria	Nord-Est	0,06 - 1,85	
		Sud-Ouest	0,11 - 2,71	
Eté, 2003	Grèce	Golf de Elefsis	0,81 - 0,85	(Scoullos *et al.*, 2006)
		Golf Evoikos	0,4	
		Golf Maliakos	0,55	
Hiver, 2004	Grèce	Golf de Elefsis	0,47 - 0,64	
		Golf Evoikos	0,30 - 0,43	
		Golf Maliakos	0,47	
2004	Global		1,0 - 5,0	(ATSDR, 2004)
2006-2007	France, Toulon	Grande Rade	0,35-1,02	(Rossi, 2008)
		Petite Rade	1,02 - 2,00	
2007	Egypte	Damiette Harbor	2,23 - 10,75	(Faragallah *et al.*, 2009)
2008	Egypte	El-Mex Bay	1,8 - 10,8	(Nessim, R. B. *et al.*, 2010)

Table A-3 : Concentrations de cuivre relâchées dans l'eau de mer par des peintures antifouling, mesurées par Karlsson et al. (Karlsson *et al.*, 2010) après 14 jours.
Sur des boîtes de Pétri en plastique, une surface de 10 cm² a été peinte sur deux couches. Après 24 heures de séchage, les surfaces ont été immergées dans 1 litre d'eau de mer artificielle durant une heure avant le début de l'expérience. Elles ont ensuite été immergées dans 1 litre d'eau de mer naturelle durant 14 jours à 22 ± 2 °C.

Peinture	Cu (µg.l^{-1})
Antifouling Olympic 86 951	533
Interspeed 617	462
Cruiser superior	105
Fabi	150
Micron Eco	16

La forme du cuivre la plus biodisponible et toxique en milieu aquatique est l'ion cuprique (Cu^{2+}). C'est aussi, avec l'hydroxyde de cuivre ($Cu(OH)_2$) et le carbonate de cuivre ($CuCO_3$), l'une des formes les plus présentes pour la gamme classique de pH de l'eau de mer (Eisler, 1998).

C'est pour ces caractéristiques que nous avons choisi le chlorure de cuivre II ($CuCl_2$) pour tester les potentiels effets du cuivre sur la mise en place d'une asymétrie au niveau des otolithes. Il s'agit d'un composé inorganique qui, à température ambiante (20 °C), se présente sous la forme d'une poudre blanche très soluble dans l'eau où il se dissocie comme suit :

$$CuCl_2 \rightarrow Cu^{2+} + 2\ Cl^-$$

Déroulement de l'expérimentation

565 poissons âgés de 67 jours ont été reçus puis acclimaté durant cinq jours avant d'être exposé à un des polluants durant six jours. La densité en individus utilisée pour cette expérience était de 40 poissons par bac expérimental.

Un nombre important de poissons (35 au total) présentant une déformation spinale a été identifié durant l'acclimatation et ces poissons ont été isolés dans un bac de 20 litres avant le début de l'expérimentation. Ils ont fait l'objet d'une analyse séparée qui n'a pas mis en évidence de différence d'asymétrie fluctuante par rapport aux témoins non déformés.

Les concentrations de polluants utilisées pour cette expérimentation ont été de 2 $mg.l^{-1}$ pour le $CuCl_2$ (0,94 $mg.l^{-1}$ Cu^{2+}) et de 15 $mg.l^{-1}$ pour le Na_3PO_4 (8,78 $mg.l^{-1}$ HPO_4^{2-}). Ces concentrations sont basées sur les valeurs maximales de la littérature en Méditerranée (J. Álvarez-Rogel *et al.*, 2006; Faragallah *et al.*, 2009). Pour le phosphate il s'agit d'environ la valeur maximale rencontrée (12,32 $mg.l^{-1}$ (J. Álvarez-Rogel *et al.*, 2006)). Pour le cuivre en revanche elle correspond à 100 fois la concentration maximale (10,75 $\mu g.l^{-1}$ (Faragallah *et al.*, 2009)). Le choix de cette concentration pour le cuivre a été effectué après consultation des NOEC[18] chroniques chez le poisson pour le chlorure de cuivre et correspond à environ 100 fois la valeur moyenne de ces NOEC chroniques en eau douce, ou à 17 fois la NOEC chronique de *Atherinops affinis* (Ayres, 1860) avec 55 $\mu g.l^{-1}$ pour 12 jours (Pichard *et al.*, 2005b).

Chaque condition a été répliquée dans 3 bacs, soit 9 bacs au total :

- bacs 1, 2, 3 : Témoin (EDM)
- bacs 4, 5, 6 : Na_3PO_4 15 $mg.l^{-1}$
- bacs 7, 8, 9 : $CuCl_2$ 2 $mg.l^{-1}$.

Mortalité

Table A-4 : *Dicentrarchus labrax*, essai de faisabilité, suivi de mortalité.
En bleu : bacs témoins en eau de mer ; en vert : bacs tests Na_3PO_4 ; en rouge : bacs tests $CuCl_2$.

Temps	Bacs									
	1 EDM	2 EDM	3 EDM	4 Na_3PO_4	5 Na_3PO_4	6 Na_3PO_4	7 $CuCl_2$	8 $CuCl_2$	9 $CuCl_2$	Total
J + 1	3	1								4
J + 2	2	1		1		1			1	6
J + 3	1	1	1					3	1	7
J + 4	1	1		1			1	4	2	10
J + 5										
J+ 6	1				1	1	1			4
Total	8	4	1	2	1	2	2	7	4	31

D'après les données de la Table A-4, un pic de mortalité a lieu à J + 4, avec un total de 10 décès répartis sur 6 bacs (ce qui correspond au plus grand nombre de bacs touchés simultanément). Les bacs présentant au final le plus de décès sont les bacs 1 (témoins négatif) et 8 (cuivre), le premier ayant une mortalité étendue sur toute la durée de l'expérimentation

[18] NOEC : No Observed Effect Concentration, concentration en-dessous de laquelle aucun effet n'est observé.

avec un pic à J + 1 et à J + 2, le second ayant une mortalité concentrée sur deux jours (J + 3 et J + 4). Aucune différence significative de mortalité entre les conditions n'est révélée par le test de Kruskall-Wallis (χ^2 = 2,175, ddl =2, p = 0,337).

Morphologie des individus

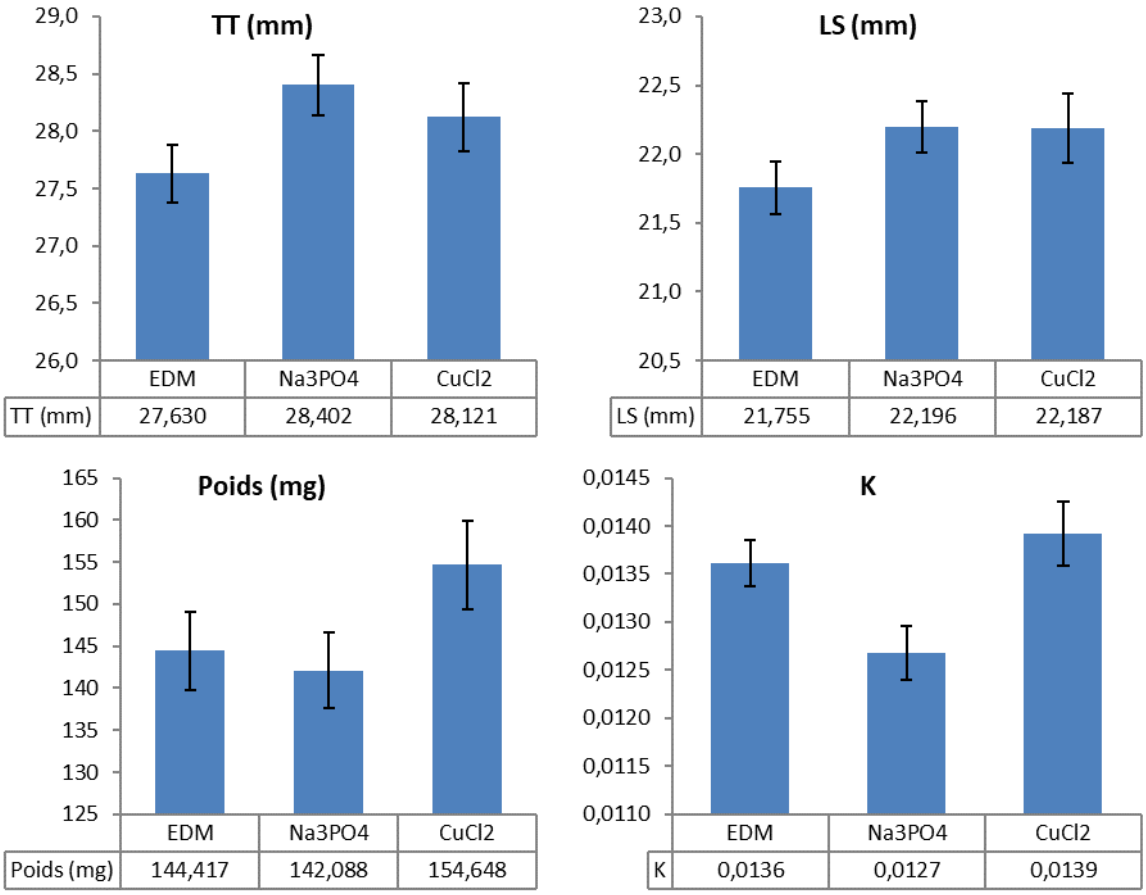


Figure A-0-7 : *Dicentrarchus labrax*, essai de faisabilité, variables morphologiques par traitement. Chaque barre d'histogramme représente la valeur moyenne de la série ± SE.

Une première observation des graphiques des différentes valeurs moyennes des paramètres morphologiques en fonction des traitements (Figure A-0-7) montre une tendance des valeurs moyennes de taille (TT et LS) à être plus importantes au niveau des groupes exposés (Na_3PO_4 et $CuCl_2$) que pour la condition témoin (EDM). Plus en détail, les individus ayant reçus le traitement phosphate sont en moyenne plus grands (TT : 2,840±0,026 cm ; LS : 2,220±0,019 cm) que les individus ayant reçu le traitement cuivre (TT : 2,812±0,030 cm ; LS : 2,219±0,025 cm) ou que le groupe témoin (TT : 2,763±0,025 cm ; LS : 2,175±0,019 cm).

Concernant le poids, les poids moyens des témoins et des individus exposés au Na_3PO_4 semblent identiques, alors que celui des individus exposés au $CuCl_2$ paraît plus élevé. En effet,

les individus ayant reçu le traitement $CuCl_2$ sont en moyenne plus lourd (0,155±0,005 g) que les individus de la condition témoin (0,144±0,005 g) ou de la condition Na_3PO_4 (0,142±0.004 g).

Enfin l'indice K montre des valeurs moyennes similaires pour les témoins et les individus exposés au $CuCl_2$, alors que les individus exposés au Na_3PO_4 présentent une valeur moyenne semblant plus faible.

Après vérification des conditions d'application, une ANOVA a été effectuée sur ces différentes variables. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence pour les tailles (TT : $F_{2,298}$=2,223, p=0,110 ; LS : $F_{2,298}$=1,476, p=0,230), ou pour le poids ($F_{2,298}$=1,835, p=0,161). Toutefois nous notons une différence significative entre les traitements concernant l'indice K dit de "Fulton" ($F_{2,298}$=5,141, p=6,384.10^{-3}). Le test post-hoc *Honestly Significant Difference* de Tukey indique qu'il existe une différence significative entre le traitement phosphate et la condition témoin (p=4,463.10^{-2}) ainsi qu'une différence très significative entre le traitement phosphate et le traitement cuivre (p=6,733.10^{-3}).

Analyses de l'asymétrie

Avant de commencer ce point il est nécessaire de rappeler que cet essai de faisabilité a été la toute première expérimentation menée dans le cadre de cette thèse. Elle a servi de base aux autres expérimentations *in aquaria* en fournissant de précieuses données sur nos possibilités expérimentales. Elle a aussi été la base de toutes les techniques et savoir-faire qui ont par la suite été utilisés (pour les expériences *in aquaria* et *in situ*) pour la dissection, la manipulation et le traitement des otolithes, à la paillasse comme au poste d'imagerie. En conséquence, les données recueillies lors de cette expérimentation tiennent de la mise au point de protocole. Nous avons choisi de les présenter afin de donner un aperçu de l'évolution de nos techniques et méthodologies depuis cette première expérimentation.

Lors de cette expérimentation, deux expérimentateurs ont effectué les mêmes mesures en parallèle, donnant un jeu de résultats pour l'opérateur 1 et un autre pour l'opérateur 2. Afin de qualifier l'asymétrie mesurée d'AF, la normalité et l'absence d'AD des deux jeux de données ont été vérifiées.

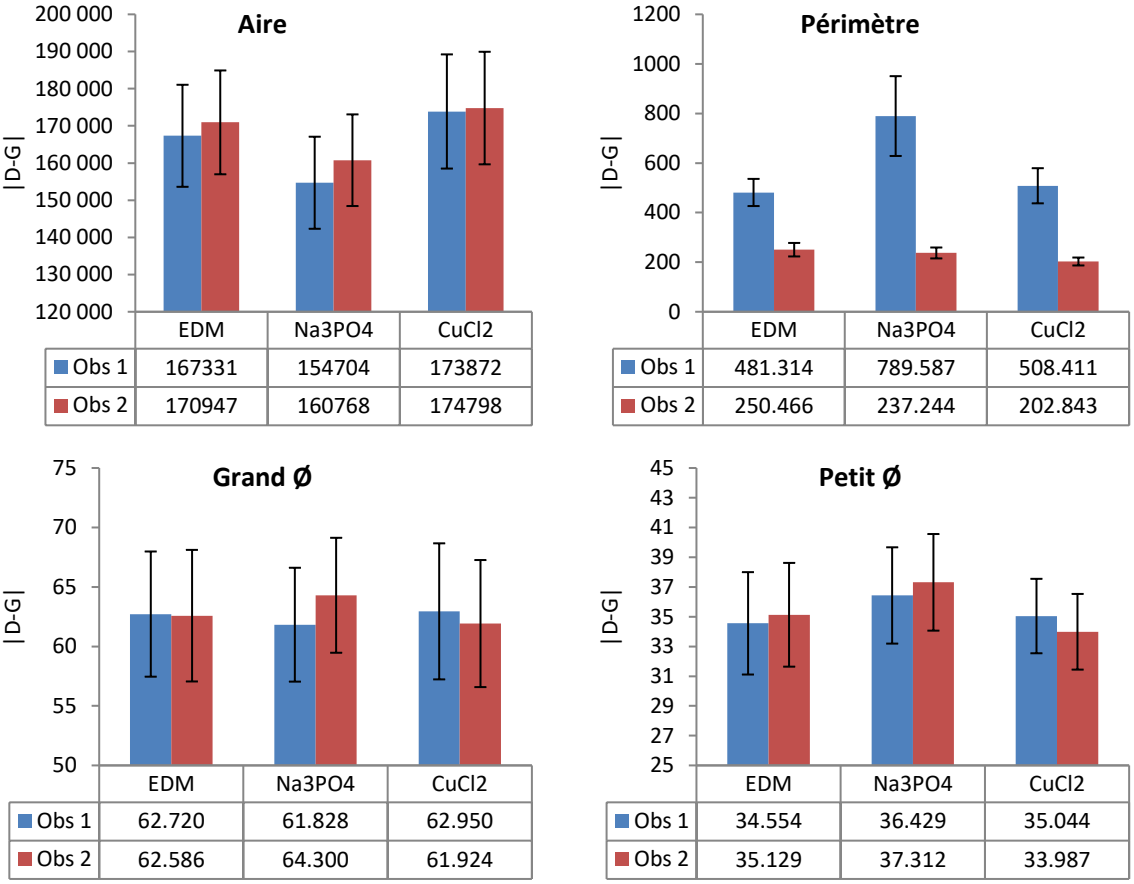


Figure A-0-8 : *Dicentrarchus labrax*, essai de faisabilité, asymétrie absolue (FA1) par paramètre.
Obs1 : Opérateur 1 ; Obs2 : Opérateur 2.
Chaque barre d'histogramme représentre la valeur moyenne de la série en pixels ± SE.

L'observation des valeurs moyennes (Figure A-0-8) d'asymétrie absolue indique des tendances similaires pour les mesures effectuées par les deux opérateurs, à l'exception du périmètre. Concernant l'aire, par rapport au témoin, le Na_3PO_4 semble diminuer l'asymétrie moyenne alors que le $CuCl_2$ ne semble pas la modifier. Le périmètre semble varier de manière différente selon que les mesures soient effectuées par l'un ou l'autre des opérateurs, l'opérateur 1 semblant identifier une augmentation de l'asymétrie pour la condition Na_3PO_4 par rapport au témoin et au $CuCl_2$, alors que l'opérateur 2 semble identifier une faible diminution de l'asymétrie pour les deux traitements par rapport au témoin. Aucune tendance ne semble ressortir des deux diamètres de la BFE. A la vue des barres d'erreur standard, les différences observées ne semblent pas significatives.

Du point de vue statistique, la condition de normalité est respectée pour l'ensemble des mesures sauf dans le cas des relevés de périmètre de l'opérateur 1 pour le traitement au Na_3PO_4 ($p<0,05$) et pour les bacs 4 ($p<0,05$), 5 ($p<0,01$) et 7 ($p<0,05$). Quatre AD ont été identifiées, deux concernant les mesures de périmètre de l'opérateur 1 des bacs 8 ($p=0,010$)

et 9 (p=0,045), et deux autres concernant les mesures de grand diamètre de la BFE de l'ensemble des opérateurs au niveau de la condition témoin (opérateur 1 p=0,031 ; opérateur 2 p=0,014) et du bac 1 (opérateur 1 p=0,023 ; opérateur 2 p=0,021). Il faudra tenir compte de cette AD pour interpréter les résultats. Une comparaison des moyennes de l'indice FA2 a alors été réalisée à l'aide d'une ANOVA à un facteur (traitement, puis bac) indépendamment sur les données de chaque opérateur. Ces ANOVA ne révèlent aucune différence significative.

Interprétation de ces résultats

Les poissons décédés dans les bacs 1, 2 et 3 lors de cette expérimentation ont été quotidiennement remplacés par l'un des expérimentateurs suite à une incompréhension. Le nombre exact de décès dans ces bacs est donc inconnu. Ce souci ne s'est révélé qu'en fin d'expérimentation lors du comptage des individus par bac. Il est ici intéressant de noter que la mortalité totale rencontrée dans les bacs témoins (13 morts) est similaire à celle des bacs cuivre (13 morts), même si pour les témoins elle est répartie sur tous les jours alors qu'en cuivre elle est plutôt sous forme d'un pic sur deux jours. Cette mortalité est plus de 2,5 fois supérieure à celle rencontré dans les bacs phosphate (5 morts), cette différence de mortalité entre traitements n'étant toutefois pas significative. Ces données confirment les observations effectuées en cours d'expérimentations : les individus des bacs phosphate semblaient être moins excités (accélérations et virages brutaux) que ceux des autres bacs lors des distributions de nourriture. Nous avons aussi pu constater que les individus d'un même bac peuvent avoir tendance à s'attaquer et à abîmer la nageoire caudale de congénères, ce qui correspond à une excitation plus élevée des poissons vue dans le cas du traitement cuivre. Notons que les deux bacs présentant les plus hauts taux de mortalité (bac 1 et 8) sont les bacs situés en extrémité de paillasse. L'un était le plus proche de la porte d'entrée de la salle (bac 8), l'autre était le plus proche de la porte permettant d'accéder à la zone de préparation (bac 1), deux zones à haut niveau de passage pouvant augmenter le stress des poissons.

Du point de vue des paramètres morphologiques mesurés, les apparents bons résultats du cuivre sont à considérer avec scepticisme. En effet, la forte mortalité d'individus les plus fragiles a pu augmenter artificiellement les valeurs des différents paramètres morphologiques en ne laissant que les individus les plus vigoureux. De même les valeurs étonnamment basses des bacs témoins ont probablement pour origine le remplacement des individus décédés par d'autres provenant d'un bac réserve (comme expliqué plus haut). A la vue de ces informations,

seules les valeurs des bacs Na_3PO_4 semblent fiables. Notons un écart entre les valeurs observées pour TT et LS qui peut s'expliquer par l'intégrité ou non de la nageoire caudale. Finalement, concernant les tailles, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les conditions. Nous avons aussi une absence de différences significatives entre les moyennes de chaque traitement pour le poids. Pour en terminer avec les caractéristiques morphologiques, l'indice de condition K est le seul à présenter deux différences significatives : entre la condition Na_3PO_4 et les deux autres conditions. Cependant les résultats de cet indice semblent étonnants, la valeur moyenne pour la condition Na_3PO_4 étant inférieure à celles pour les autres conditions. Deux éléments permettent d'expliquer ce résultat. En premier lieu, la mortalité influence directement les valeurs moyennes de tailles et de poids comme expliqué plus haut. En second lieu, la méthode de calcul de cet indice est : poids/LS^3. La valeur de LS étant plus grande et la valeur de poids plus petite pour le traitement phosphate que pour les deux autres traitements, un indice divisant le poids par le cube de la LS va avoir tendance à amplifier les différences entre les trois traitements. Cette information ne concernant que les poissons ayant survécu, ce type d'indice n'est pas pertinent dans ce cas pour rendre compte de la condition physique des individus selon les traitements.

Concernant les mesures d'asymétrie, nous devons effectuer un rappel sur les techniques employées dans cette expérimentation. Comme indiqué dans la partie Matériels, la mesure de l'asymétrie a ici été réalisée "à la main", en déterminant le contour de l'otolithe à l'aide de la superposition d'ellipses successives. Cette méthode, si elle donne des résultats comparables entre opérateurs pour les valeurs (moyenne ±SE) d'aire ainsi que de grand et petit diamètres de la BFE, donne des résultats différents entre opérateurs du point de vue du périmètre. Cela s'explique facilement par la méthode employée : lors de cette opération les deux opérateurs détouraient globalement la même zone (donc aire, grand et petits diamètres similaires), mais il semble plausible de dire que l'opérateur 1 utilisait un plus grand nombre d'ellipses pour délimiter le contour des otolithes que l'opérateur 2. La conséquence directe de l'utilisation d'ellipses plus nombreuses est la détermination d'un contour plus irrégulier et donc une augmentation de la longueur du périmètre pour une même surface détourée. Les valeurs de périmètre sont donc peu fiables. Concentrons-nous sur les trois autres paramètres. Nous remarquons que les valeurs moyennes pour les grand et petit diamètres de la BFE semblent similaires entre les trois conditions pour les deux opérateurs. Pour l'aire, nous notons une

tendance à la diminution de l'AF en condition Na_3PO_4 par rapport aux deux autres conditions. Aucune différence n'est toutefois confirmée statistiquement.

En conclusion, cet essai a montré la faisabilité de tests de polluants *in aquaria*. Les conditions de cette expérience n'ayant pas été totalement optimales nous n'avons pas exploité davantage ces résultats.

Annexe VI : Résultats des analyses statistiques

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

	Taille totale (cm)		Taille standard (cm)		Poids (g)		Indice de condition	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
42 Jours	2,071	1,37E-02	1,715	1,09E-02	0,061	1,65E-03	1,20E-02	2,68E-04
47 Jours	2,088	1,01E-02	1,735	8,04E-03	0,054	1,03E-03	1,03E-02	1,63E-04
49 Jours	2,108	1,14E-02	1,762	9,99E-03	0,057	1,13E-03	1,04E-02	1,22E-04
52 Jours	2,117	1,40E-02	1,768	1,17E-02	0,057	1,55E-03	1,02E-02	1,91E-04

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov

	Taille Totale		ur standard		Poids	e condition
	N	Max D	Max D		Max D	Max D
42 Jours	41	0,214	0,251•		0,105	0,093
47 Jours	55	0,206•	0,195•		0,106	0,085
49 Jours	72	0,171•	0,145		0,096	0,108
52 Jours	71	0,133	0,119		0,067	0,104

Homogénéité des variance: Test de Levene

	SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Taille tota	1,85E-02	3	6,16E-03	1,10E+00	235	4,68E-03	1,317	0,269
Taille star	1,86E-02	3	6,22E-03	7,08E-01	235	3,01E-03	2,062	0,106
Poids (g)	3,53E-04	3	1,18E-04	1,03E-02	235	4,40E-05	2,688	4,71E-02
Indice de c	1,20E-05	3	4,00E-06	2,22E-04	235	1,00E-06	4,167	6,71E-03

Comparaison des moyennes : Kruskal Wallis

	N	ddl	H	p
Taille tota	239	3	6,779	7,93E-02
Taille star	239	3	15,115	1,70E-03
Poids (g)	239	3	13,164	4,30E-03
Indice de c	239	3	37,339	< 2,2E-16

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA4 (D-G)

				Aire		Périmètre		Grand Ø		Petit Ø	
		N	ddl	t-value	p	t-value	p	t-value	p	t-value	p
Âge	42	30	29	-0,757	0,455	0,786	0,439	-0,122	0,903	-0,802	0,429
	47	57	56	-0,275	0,784	0,139	0,89	-2,161	0,035	1,522	0,134
	49	56	55	-1,216	0,229	-0,831	0,41	-1,806	0,076	0,041	0,967
	52	40	39	-1,797	0,08	-1,476	0,148	-1,462	0,152	-0,948	0,349
Bac	1	16	15	-1,066	0,303	-1,257	0,228	-1,045	0,313	0,262	0,797
	2	21	20	-0,225	0,824	-0,436	0,667	-1,646	0,115	0,779	0,445
	3	20	19	0,863	0,399	2,008	0,059	-0,995	0,332	1,619	0,122
	4	16	15	-0,424	0,678	-1,023	0,323	-0,881	0,392	0,392	0,7
	5	16	15	-2,014	0,062	-1,193	0,251	-3,3	0,005	0,392	0,7
	6	24	23	-0,298	0,768	0,525	0,604	-0,026	0,979	-0,521	0,608
	7	10	9	-0,285	0,782	-0,255	0,805	-0,14	0,892	-0,164	0,873
	8	13	12	-1,668	0,121	-1,902	0,081	-2,015	0,067	-0,84	0,417
	9	17	16	-0,962	0,351	-0,514	0,615	-0,726	0,478	-0,536	0,6

Valeurs: Données pour FA1 |D-G|

	Aire		Périmètre		Grand Ø		Petit Ø	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
42	7,79E+04	1,35E+04	150,27	20,086	51,987	6,614	35,037	5,275
47	9,18E+04	1,51E+04	142,188	21,209	48,523	6,254	38,619	5,101
49	9,56E+04	1,60E+04	127,947	15,319	54,737	6,238	38,096	5,097
52	1,10E+05	1,67E+04	205,516	36,03	53,142	10,017	32,628	4,274

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA4 (D-G)

			Aire				Périmètre				Grand Ø				Petit Ø			
		N	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
Âge	42	30	-14804,867	0,16	-0,43	0,29	26,726	0,091	0,138	0,162	-1,431	0,098	-0,098	-0,358	-6,648	0,148	-0,137	1,768
	47	57	-5352,86	0,149	-2,178	10,874	3,943	0,146	-1,553	7,257	-18,707	0,086	-0,867	2,864	10,822	0,13	-1,291	6,677
	49	56	-24325,321	0,157	-2,738	14,514	-18,797	0,067	-0,697	1,905	-16,741	0,071	-0,648	1,964	0,296	0,117	-1,695	7,148
	52	40	-41858,5	0,102	-1,141	5,391	-70,112	0,137	-0,138	4,951	-18,712	0,182	1,292	7,781	-6,326	0,099	0,082	0,069
Bac	1	16	-27155,063	0,224	-1,534	2,832	-49,333	0,147	-0,831	-0,236	-21,03	0,161	-1,674	5,336	2,244	0,121	-0,093	0,696
	2	21	-10325,429	0,178	-1,981	7,215	-25,836	0,238	-2,098	7,82	-22,937	0,138	0,074	0,002	12,259	0,212	-1,587	6,348
	3	20	17310,1	0,134	-0,554	1,147	77,833	0,152	0,307	0,216	-12,408	0,146	-0,459	2,158	16,175	0,154	-0,37	-0,677
	4	16	-10118,688	0,139	0,103	-0,032	-49,452	0,14	0,137	-0,741	-13,146	0,148	0,864	0,034	5,477	0,115	0,136	0,879
	5	16	-57182,938	0,106	0,336	-0,81	-43,256	0,196	0,72	-0,303	-44,803	0,122	-0,22	-1,107	4,65	0,214	-0,524	-1,395
	6	24	-11891,333	0,309•	-3,27	14,176	17,946	0,215	-2,207	9,235	-0,43	0,154	-1,588	4,407	-6,061	0,227	-3,333	13,795
	7	10	-14018,5	0,159	1,102	1,644	-34,574	0,217	1,007	2,894	-5,331	0,294	2,383	6,596	-2,219	0,164	-0,484	-0,84
	8	13	-84594,538	0,273	-2,18	6,414	-155,776	0,283	-2,633	8,223	-40,193	0,226	-2,084	5,962	-10,791	0,181	0,561	2,404
	9	17	-25554,471	0,161	-0,279	-0,85	-25,509	0,174	-0,124	-0,951	-10,157	0,192	0,188	1,342	-5,329	0,16	-0,003	-0,528

Homogénéité des variance: Test de Levene sur FA4 (D-G)

		SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Age	Aire	1,08E+10	3	3,61E+09	2,06E+12	179	1,15E+10	3,14E-01	0,815
	Périmètre	1,26E+05	3	4,20E+04	4,43E+06	179	2,48E+04	1,696	0,17
	Grand Ø	9,40E+02	3	3,13E+02	4,17E+05	179	2,33E+03	1,35E-01	0,939
	Petit Ø	1,33E+03	3	4,43E+02	2,11E+05	179	1,18E+03	3,76E-01	0,77
Bac	Aire	7,21E+10	9	8,01E+09	1,96E+12	173	1,13E+10	7,08E-01	0,701
	Périmètre	2,94E+05	9	3,26E+04	3,97E+06	173	2,30E+04	1,421	0,182
	Grand Ø	1,26E+04	9	1,39E+03	3,87E+05	173	2,24E+03	6,23E-01	0,776
	Petit Ø	6,83E+03	9	7,59E+02	2,02E+05	173	1,17E+03	6,49E-01	0,754

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA1 |D-G|

		Aire				Périmètre				Grand Ø				Petit Ø			
	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	1,49E+12	1,49E+12	126,686	< 2,2E-16	4,15E+06	4,15E+06	164,131	< 2,2E-16	4,59E+05	4,59E+05	187,572	< 2,2E-16	2,20E+05	2,20E+05	183,958	< 2,2E-16
Âge	3	1,76E+10	5,88E+09	0,501	0,682	1,59E+05	5,30E+04	2,096	0,102	8,99E+02	3,00E+02	0,122	0,947	9,63E+02	3,21E+02	0,268	0,848
Erreur	179	2,10E+12	1,17E+10			4,53E+06	2,53E+04			4,38E+05	2,45E+03			2,14E+05	1,20E+03		
Total	182	2,12E+12				4,68E+06				4,39E+05				2,15E+05			
Intercept	1	1,56E+12	1,56E+12	132,894	< 2,2E-16	4,32E+06	4,32E+06	169,985	< 2,2E-16	4,64E+05	4,64E+05	188,08	< 2,2E-16	2,19E+05	2,19E+05	181,607	< 2,2E-16
Bac	9	8,63E+10	9,58E+09	0,817	0,601	2,83E+05	3,15E+04	1,236	0,276	1,20E+04	1,34E+03	0,542	0,843	7,16E+03	7,96E+02	0,661	0,743
Erreur	173	2,03E+12	1,17E+10			4,40E+06	2,54E+04			4,27E+05	2,47E+03			2,08E+05	1,20E+03		
Total	182	2,12E+12				4,68E+06				4,39E+05				2,15E+05			

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

	Taille totale (cm)		Taille standard (cm)		Poids (g)		Indice de condition	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
EDM	2,763	2,50E-02	2,175	1,95E-02	0,144	4,69E-03	1,36E-02	2,40E-04
HPO_4^{2-}	2,84	2,59E-02	2,22	1,88E-02	0,142	4,53E-03	1,27E-02	2,80E-04
Cu^{2+}	2,812	3,00E-02	2,219	2,55E-02	0,155	5,23E-03	1,39E-02	3,37E-04

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov

	Taille totale (cm)	andard (cm)	Poids (g)	e condition
	N	Max D	Max D	Max D
EDM	108	0,107	0,091	0,081	0,106
HPO_4^{2-}	102	0,11	0,125	0,074	0,098
Cu^{2+}	91	0,113	0,129	0,076	0,133

Homogénéité des variance: Test de Levene

	SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Taille tota	5,88E-02	2	2,94E-02	7,693	298	2,58E-02	1,139	0,321
Taille stan	6,00E-02	2	3,00E-02	5,1	298	1,71E-02	1,751	0,175
Poids (g)	1,30E-03	2	6,51E-04	2,08E-01	298	6,98E-04	0,932	0,395
Indice de c	3,00E-06	2	1,00E-06	1,18E-03	298	4,00E-06	0,364	0,695

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur

		Taille totale				Taille standard				Poids				Indice de condition (Fulton)			
	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	2356,446	2356,446	32595,115	< 2,2E-16	1455,525	1455,525	32474,553	< 2,2E-16	6,476	6,476	2801,991	< 2,2E-16	0,054	0,054	6682,167	< 2,2E-16
Traitement	2	0,321	0,161	2,223	0,11	0,132	0,066	1,476	0,23	0,008	0,004	1,835	0,161	0	0	5,141	0,006
Erreur	298	21,544	0,072			13,357	0,045			0,689	0,002			0,002	0		
Total	300	21,865				13,489				0,697				0,002			

Post-hoc: Tukey

Indice de c	EDM	HPO_4^{2-}	Cu^{2+}
EDM			
P	0,0446		
Cu	0,7267	0,0067	

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA4 (D-G)

				Aire		Périmètre		Grand		Petit	
		N	ddl	t-value	p	t-value	p	t-value	p	t-value	p
Opérateur 1	EDM	98	97	-1,29	0,2	-0,873	0,385	-2,191	0,031	0,683	0,496
	P	99	98	-0,185	0,854	-0,434	0,665	-1,865	0,065	1,85	0,067
	Cu	84	83	-0,426	0,671	0,891	0,375	0,116	0,908	-0,777	0,439
Opérateur 2	EDM	98	97	-1,611	0,111	-0,459	0,647	-2,492	0,014	0,614	0,541
	P	99	98	0,368	0,713	0,19	0,85	-1,325	0,188	1,986	0,05
	Cu	84	83	-0,454	0,651	1,191	0,237	-0,151	0,88	-0,523	0,602
Opérateur 1	Bac 1	35	34	-1,545	0,132	-0,171	0,865	-2,384	0,023	0,695	0,492
	Bac 2	33	32	-1,068	0,293	-0,558	0,581	-0,179	0,859	-1,634	0,112
	Bac 3	30	29	0,413	0,683	-0,654	0,519	-1,153	0,258	1,441	0,16
	Bac 4	34	33	-0,219	0,828	0,133	0,895	-0,862	0,395	0,86	0,396
	Bac 5	36	35	0,868	0,391	-0,714	0,48	-0,95	0,349	1,85	0,073
	Bac 6	29	28	-1,249	0,222	0,098	0,922	-1,458	0,156	0,237	0,815
	Bac 7	28	27	-0,361	0,721	1,803	0,083	-0,18	0,859	-0,326	0,747
	Bac 8	29	28	1,348	0,188	2,783	0,01	1,336	0,192	0,153	0,879
	Bac 9	27	26	-1,377	0,18	-2,102	0,045	-0,942	0,355	-1,092	0,285
Opérateur 2	Bac 1	35	34	-1,446	0,157	1,109	0,275	-2,423	0,021	0,896	0,377
	Bac 2	33	32	-1,505	0,142	-0,449	0,657	-0,493	0,625	-1,928	0,063
	Bac 3	30	29	0,16	0,874	-1,884	0,07	-1,324	0,196	1,381	0,178
	Bac 4	34	33	0,485	0,631	-0,411	0,684	-0,27	0,789	1,002	0,324
	Bac 5	36	35	0,89	0,379	0,382	0,705	-0,898	0,375	1,942	0,06
	Bac 6	29	28	-0,969	0,341	0,086	0,932	-1,208	0,237	0,254	0,801
	Bac 7	28	27	-0,338	0,738	1,315	0,2	-0,378	0,709	-0,052	0,959
	Bac 8	29	28	1,095	0,283	1,136	0,266	1,092	0,284	0,111	0,913
	Bac 9	27	26	-1,137	0,266	-0,331	0,743	-0,929	0,362	-0,825	0,417

Valeurs: Données pour FA1 |D-G|

	|Aire|		|Périmètre|		|Grand|		|Petit|	
Obs 1	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
EDM	1,67E+05	1,37E+04	481,314	54,778	62,72	5,262	34,554	3,442
Na_3PO_4	1,55E+05	1,24E+04	789,587	160,982	61,828	4,785	36,429	3,237
$CuCl_2$	1,74E+05	1,54E+04	508,411	70,857	62,95	5,719	35,044	2,502
Obs 2	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
EDM	1,71E+05	1,40E+04	250,466	27,22	62,586	5,53	35,129	3,488
Na_3PO_4	1,61E+05	1,23E+04	237,244	21,992	64,3	4,831	37,312	3,249
$CuCl_2$	1,75E+05	1,51E+04	202,843	16,015	61,924	5,34	33,987	2,545

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA4 (D-G)

			Aire				Périmètre				Grand Ø				Petit Ø			
		N	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
Opérateur 1	EDM	98	-27934,714	0,058	-0,114	0,464	-63,854	0,122	0,094	5,236	-17,67	0,091	-0,559	0,177	3,348	0,096	1,514	7,604
	P 15 mg.l	99	-3689,091	0,053	-0,005	-0,064	-77,85	0,268•	-3,54	28,803	-14,418	0,068	-0,216	-0,376	8,912	0,084	0,131	0,674
	Cu 2 mg.l	84	-10432,226	0,116	-0,312	-0,094	79,983	0,14	1,416	11,188	1,04	0,084	-0,367	0,427	-3,553	0,088	-0,491	0,25
Opérateur 2	EDM	98	-35409,837	0,058	-0,151	0,494	-17,076	0,093	1,056	7,315	-20,348	0,092	-0,61	0,314	3,057	0,082	1,682	8,489
	P 15 mg.l	99	7505,141	0,049	-0,029	-0,209	6,167	0,073	0,382	3,931	-10,628	0,079	-0,201	-0,501	9,691	0,07	0,18	0,581
	Cu 2 mg.l	84	-11075,833	0,09	-0,284	-0,105	32,392	0,064	0,297	-0,328	-1,309	0,055	-0,328	0,322	-2,358	0,094	-0,492	0,13
Opérateur 1	Bac 1	35	-55456,543	0,078	-0,262	1,13	-12,234	0,106	-0,636	0,939	-31,868	0,116	-0,725	0,96	4,724	0,105	0,312	-0,452
	Bac 2	33	-39241,364	0,114	-0,523	0,631	-75,532	0,189	-1,719	7,072	-2,332	0,149	-0,704	-0,16	-10,39	0,076	-0,273	-0,667
	Bac 3	30	16611,4	0,113	0,364	-0,403	-111,23	0,145	1,488	2,767	-17,978	0,081	-0,337	-0,033	16,856	0,176	1,815	7,164
	Bac 4	34	-8213,147	0,074	-0,146	-0,185	39,437	0,248•	0,135	9,881	-12,49	0,13	-0,503	-0,357	7,244	0,08	-0,406	0,39
	Bac 5	36	28995,75	0,078	0,336	-0,144	-267,759	0,349••	-5,137	29,563	-11,568	0,075	0,114	0,034	16,247	0,111	0,509	0,593
	Bac 6	29	-38959,31	0,141	-0,632	-0,705	20,391	0,17	0,964	5,154	-20,216	0,096	-0,159	-0,719	1,762	0,153	-0,214	0,552
	Bac 7	28	-15234,214	0,125	-0,045	-0,162	323,186	0,264•	3,65	16,027	-2,487	0,138	-0,343	0,508	-2,331	0,109	-0,099	-1,025
	Bac 8	29	46910,724	0,12	-0,494	0,62	238,929	0,096	0,407	0,807	20,456	0,135	-0,236	1,193	1,172	0,135	-0,01	-1,327
	Bac 9	27	-67042,963	0,084	-0,143	-0,286	-342,947	0,159	-0,722	0,105	-16,158	0,101	-0,508	-0,206	-9,895	0,151	-0,993	1,366
Opérateur 2	Bac 1	35	-52506,829	0,083	-0,454	1,658	73,367	0,18	3,056	14,044	-32,325	0,128	-0,872	0,951	6,124	0,119	0,408	-0,446
	Bac 2	33	-55515,848	0,132	-0,572	-0,117	-29,263	0,164	-0,757	1,516	-6,356	0,141	-0,843	0,113	-12,356	0,074	-0,126	-0,766
	Bac 3	30	6653,267	0,099	0,417	-0,281	-109,187	0,106	-0,115	-0,168	-21,767	0,102	-0,273	0,123	16,433	0,162	2,012	8,111
	Bac 4	34	17562	0,086	-0,17	-0,117	-15,265	0,117	-0,734	-0,088	-4,049	0,138	-0,501	-0,284	8,725	0,095	-0,406	-0,051
	Bac 5	36	30937,556	0,098	0,307	-0,312	28,039	0,121	0,389	2,637	-11,249	0,114	0,042	-0,158	16,84	0,141	0,668	0,766
	Bac 6	29	-33374,172	0,166	-0,584	-0,649	4,141	0,13	0,087	-1,453	-17,57	0,077	-0,082	-0,913	1,946	0,119	-0,09	0,772
	Bac 7	28	-13943,607	0,093	-0,169	-0,23	64,436	0,125	0,445	0,719	-5,076	0,095	-0,262	-0,1	-0,358	0,099	-0,296	-0,651
	Bac 8	29	35938,69	0,119	-0,7	1,419	47,341	0,142	0,179	-0,937	15,741	0,108	-0,179	1,386	0,796	0,129	-0,008	-1,382
	Bac 9	27	-58598,926	0,109	0,089	-0,45	-16,895	0,112	0,356	-0,879	-15,715	0,089	-0,435	-0,227	-7,82	0,109	-0,704	0,513

Homogénéité des variance: Test de Levene sur FA4 (D-G)

			SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Contaminant	Opérateur 1	Aire	1,86E+10	2	9,32E+09	4,83E+12	278	1,74E+10	5,37E-01	0,585
		Périmètre	5,94E+06	2	2,97E+06	3,13E+08	278	1,12E+06	2,641	0,073
		Grand	6,87E+01	2	3,43E+01	6,56E+05	278	2,36E+03	1,46E-02	0,986
		Petit	4,28E+01	2	2,14E+01	2,53E+05	278	9,09E+02	2,35E-02	0,977
	Opérateur 2	Aire	9,48E+09	2	4,74E+09	4,83E+12	278	1,74E+10	2,73E-01	0,761
		Périmètre	1,04E+05	2	5,19E+04	1,34E+07	278	4,81E+04	1,079	0,341
		Grand	6,05E+02	2	3,03E+02	6,61E+05	278	2,38E+03	1,27E-01	0,88
		Petit	2,54E+02	2	1,27E+02	2,60E+05	278	9,33E+02	1,36E-01	0,873
Bac	Opérateur 1	Aire	8,89E+10	8	1,11E+10	4,52E+12	272	1,66E+10	6,70E-01	0,718
		Périmètre	1,05E+07	8	1,32E+06	2,97E+08	272	1,09E+06	1,208	0,294
		Grand	8,86E+03	8	1,11E+03	6,33E+05	272	2,33E+03	4,76E-01	0,873
		Petit	4,66E+03	8	5,83E+02	2,39E+05	272	8,78E+02	6,63E-01	0,724
	Opérateur 2	Aire	1,15E+11	8	1,43E+10	4,49E+12	272	1,65E+10	8,68E-01	0,544
		Périmètre	4,77E+05	8	5,97E+04	1,24E+07	272	4,54E+04	1,315	0,236
		Grand	8,76E+03	8	1,10E+03	6,51E+05	272	2,39E+03	4,57E-01	0,885
		Petit	5,58E+03	8	6,98E+02	2,41E+05	272	8,86E+02	7,88E-01	0,614

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA1 |D-G|

			Aire				Périmètre				Grand				Petit			
Opérateur 1	Intercept	1	7,64E+12	7,64E+12	431,264	< 2,2E-16	9,83E+07	9,83E+07	86,758	< 2,2E-16	1,09E+06	1,09E+06	425,337	< 2,2E-16	3,49E+05	3,49E+05	376,077	< 2,2E-16
	Traitement	2	1,76E+10	8,82E+09	0,498	0,608	5,64E+06	2,82E+06	2,49	0,085	6,62E+01	3,31E+01	0,013	0,987	1,85E+02	9,26E+01	0,1	0,905
	Erreur	278	4,92E+12	1,77E+10			3,15E+08	1,13E+06			7,13E+05	2,57E+03			2,58E+05	9,28E+02		
	Total	280	4,94E+12				3,21E+08				7,13E+05				2,58E+05			
Opérateur 2	Intercept	1	7,97E+12	7,97E+12	449,64	< 2,2E-16	1,48E+07	1,48E+07	304,33	< 2,2E-16	1,11E+06	1,11E+06	429,794	< 2,2E-16	3,52E+05	3,52E+05	371,452	< 2,2E-16
	Traitement	2	9,84E+09	4,92E+09	0,278	0,758	1,08E+05	5,38E+04	1,105	0,333	2,81E+02	1,41E+02	0,055	0,947	5,30E+02	2,65E+02	0,28	0,756
	Erreur	278	4,93E+12	1,77E+10			1,35E+07	4,87E+04			7,16E+05	2,58E+03			2,63E+05	9,47E+02		
	Total	280	4,93E+12				1,36E+07				7,16E+05				2,64E+05			
Opérateur 1	Intercept	1	7,61E+12	7,61E+12	426,246	< 2,2E-16	9,89E+07	9,89E+07	86,428	< 2,2E-16	1,09E+06	1,09E+06	420,09	< 2,2E-16	3,47E+05	3,47E+05	374,272	< 2,2E-16
	Bac	8	8,42E+10	1,05E+10	0,589	0,786	9,32E+06	1,17E+06	1,018	0,422	7,01E+03	8,77E+02	0,338	0,951	6,32E+03	7,90E+02	0,853	0,557
	Erreur	272	4,86E+12	1,79E+10			3,11E+08	1,14E+06			7,06E+05	2,60E+03			2,52E+05	9,26E+02		
	Total	280	4,94E+12				3,21E+08				7,13E+05				2,58E+05			
Opérateur 2	Intercept	1	7,96E+12	7,96E+12	449,491	< 2,2E-16	1,47E+07	1,47E+07	303,362	< 2,2E-16	1,11E+06	1,11E+06	426,826	< 2,2E-16	3,49E+05	3,49E+05	369,885	< 2,2E-16
	Bac	8	1,19E+11	1,49E+10	0,84	0,568	4,69E+05	5,86E+04	1,21	0,293	9,37E+03	1,17E+03	0,451	0,889	6,75E+03	8,44E+02	0,893	0,523
	Erreur	272	4,82E+12	1,77E+10			1,32E+07	4,84E+04			7,07E+05	2,60E+03			2,57E+05	9,45E+02		
	Total	280	4,93E+12				1,36E+07				7,16E+05				2,64E+05			

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

	Taille totale (cm)		Taille standard (cm)		Poids (g)		Indice de condition	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
EDM	2,4171	2,18E-02	1,9349	1,54E-02	0,0987	3,20E-03	1,30E-02	1,90E-04
0,4 mg/l	2,4469	1,88E-02	1,9597	1,49E-02	0,103	2,95E-03	1,32E-02	1,63E-04
15 mg/l	2,43	1,87E-02	1,9407	1,32E-02	0,1009	2,86E-03	1,34E-02	2,19E-04

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov

		EDM	0,4 mg.l^{-1}	15 mg.l^{-1}
	N	Max D	Max D	Max D
EDM	126	0,083	0,086	0,053
0,4 mg.l^{-1}	129	0,087	0,08	0,07
15 mg.l^{-1}	129	0,114	0,112	0,068

Homogénéité des variance: Test de Levene

	SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Taille tota	3,67E-02	2	1,83E-02	6,356	381	1,67E-02	1,099	0,334
Taille stan	1,29E-02	2	6,45E-03	3,334	381	8,75E-03	0,737	0,479
Poids (g)	1,16E-04	2	5,80E-05	1,49E-01	381	3,91E-04	0,148	0,863
Indice de c	2,00E-06	2	1,00E-06	6,86E-04	381	2,00E-06	0,675	0,51

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur

		Taille totale				Taille standard				Poids				Indice de condition (Fulton)			
	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	2269,702	2269,702	45266,84	< 2,2E-16	1452,656	1452,656	54098,83	< 2,2E-16	3,904	3,904	3384,21	< 2,2E-16	0,067	0,067	14905,22	< 2,2E-16
Traitement	2	0,057	0,029	0,57	0,567	0,043	0,022	0,8	0,45	0,001	0,001	0,506	0,603	0	0	0,7	0,499
Erreur	381	19,104	0,05			10,231	0,027			0,44	0,001			0,002	0		
Total	383	19,161				10,274				0,441				0,002			

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA4 (D-G)

			Aire		Périmètre		Grand		Petit	
	N	ddl	t-value	p	t-value	p	t-value	p	t-value	p
0 mg.l	113	112	0,479	0,633	0,131	0,896	0,3	0,765	0,689	0,492
0,4 mg.l	111	110	0,643	0,522	-0,068	0,946	0,395	0,694	0,944	0,347
15 mg.l	112	111	1,597	0,113	0,503	0,616	0,816	0,416	1,29	0,2
Bac 1	37	36	1,054	0,299	-0,041	0,968	1,373	0,178	0,524	0,604
Bac 2	36	35	-0,893	0,378	0,277	0,783	-1,306	0,2	0,114	0,91
Bac 3	40	39	0,659	0,514	-0,211	0,834	0,436	0,665	0,503	0,618
Bac 4	38	37	0,009	0,993	-0,048	0,962	-0,323	0,749	0,547	0,588
Bac 5	36	35	1,854	0,072	1,659	0,106	2,355	0,024•	0,243	0,81
Bac 6	37	36	-0,344	0,733	-1,801	0,08	-1,079	0,288	0,748	0,459
Bac 7	36	35	1,134	0,265	0,842	0,405	0,918	0,365	0,466	0,644
Bac 8	37	36	0,501	0,619	-0,397	0,693	0,102	0,919	0,576	0,568
Bac 9	39	38	1,151	0,257	1,001	0,323	0,492	0,625	1,155	0,255

Valeurs: Données pour FA1 |D-G|

	|Aire|		|Périmètre|		|Grand|		|Petit|	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
0	1,41E+05	1,19E+04	265,2	37,944	58,239	3,987	37,202	2,531
0,4	1,58E+05	1,80E+04	307,662	34,022	69,921	5,372	35,408	3,282
15	1,39E+05	1,03E+04	221,647	22,579	59,275	4,734	35,23	2,686

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA4 (D-G)

		Aire				Périmètre				Grand				Petit			
	N	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
0 mg.l	113	8508,044	0,08	-0,157	1,81	5,514	0,165••	3,532	27,123	2,046	0,062	-0,049	-0,133	2,961	0,038	0,032	-0,187
0,4 mg.l	111	15052,099	0,106	-2,571	16,664	-3,271	0,127	0,554	4,512	3,358	0,067	-0,928	2,306	4,441	0,07	-0,742	5,685
15 mg.l	112	26389,42	0,049	0,073	0,137	15,492	0,087	-0,761	5,779	5,985	0,062	0,08	0,387	5,494	0,08	-0,182	0,28
Bac 1	37	36679,649	0,12	-0,045	2,625	-1,696	0,109	0,322	1,319	15,947	0,088	0,202	-0,369	4,319	0,091	-0,074	-0,223
Bac 2	36	-29110,056	0,114	-0,559	0,872	31,2	0,198	3,358	16,636	-15,601	0,119	-0,37	-0,528	0,792	0,072	0,387	-0,164
Bac 3	40	16305,6	0,074	0,215	0,751	-10,934	0,167	-0,284	4,593	5,069	0,121	0,018	0,136	3,658	0,086	-0,113	0,007
Bac 4	38	305	0,096	-0,478	0,039	-5,449	0,164	0,472	2,288	-4,49	0,115	-0,841	0,296	4,107	0,097	0,595	-0,047
Bac 5	36	64364,972	0,13	-0,158	2,624	102,394	0,142	1,792	5,229	32,419	0,087	-0,544	0,185	1,595	0,075	-0,261	0,467
Bac 6	37	-17782,324	0,248•	-3,587	18,807	-103,842	0,109	-0,692	2,575	-16,856	0,128	-1,325	5,085	7,552	0,164	-1,524	8,075
Bac 7	36	28730,333	0,12	0,4	0,078	35,011	0,091	-0,128	0,732	11,109	0,082	0,463	0,484	3,547	0,112	-0,291	-0,267
Bac 8	37	15127,027	0,086	-0,28	0,333	-29,179	0,146	-0,81	4,26	1,525	0,079	-0,341	0,018	4,222	0,118	-0,284	0,318
Bac 9	39	34913,41	0,096	0,228	-0,081	39,855	0,143	0,552	0,111	5,486	0,141	0,686	0,645	8,498	0,098	-0,019	1,052

Homogénéité des variance: Test de Levene sur FA4 (D-G)

		SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Concentrati	Aire	2,42E+10	2	1,21E+10	7,01E+12	333	2,11E+10	5,75E-01	0,563
	Périmètre	6,05E+05	2	3,02E+05	3,85E+07	333	1,16E+05	2,615	0,075
	Grand	8,34E+03	2	4,17E+03	8,34E+05	333	2,50E+03	1,666	0,191
	Petit	3,05E+02	2	1,53E+02	3,01E+05	333	9,03E+02	1,69E-01	0,845
Bac	Aire	6,39E+10	8	7,98E+09	6,72E+12	327	2,06E+10	3,89E-01	0,927
	Périmètre	2,64E+06	8	3,30E+05	3,52E+07	327	1,08E+05	3,07	0,002
	Grand	1,32E+04	8	1,66E+03	7,99E+05	327	2,44E+03	6,77E-01	0,712
	Petit	3,81E+03	8	4,76E+02	2,96E+05	327	9,06E+02	5,26E-01	0,837

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA1 |D-G|

		Aire				Périmètre				Grand				Petit			
	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	7,16E+12	7,16E+12	339,997	< 2,2E-16	2,36E+07	2,36E+07	203,44	< 2,2E-16	1,31E+06	1,31E+06	525,627	< 2,2E-16	4,34E+05	4,34E+05	479,769	< 2,2E-16
Concentrati	2	3,15E+10	1,58E+10	0,749	0,474	6,11E+05	3,06E+05	2,64	0,073	8,72E+03	4,36E+03	1,749	0,176	1,61E+02	8,04E+01	0,089	0,915
Erreur	333	7,01E+12	2,11E+10			3,86E+07	1,16E+05			8,30E+05	2,49E+03			3,02E+05	9,05E+02		
Total	335	7,04E+12				3,92E+07				8,39E+05				3,02E+05			
Intercept	1	7,15E+12	7,15E+12	335,299	< 2,2E-16	2,36E+07	2,36E+07	210,703	< 2,2E-16	1,31E+06	1,31E+06	522,045	< 2,2E-16	4,34E+05	4,34E+05	476,517	< 2,2E-16
Bac	8	6,48E+10	8,10E+09	0,38	0,931	2,59E+06	3,23E+05	2,891	0,004	1,77E+04	2,21E+03	0,879	0,534	4,04E+03	5,05E+02	0,555	0,815
Erreur	327	6,98E+12	2,13E+10			3,66E+07	1,12E+05			8,21E+05	2,51E+03			2,98E+05	9,10E+02		
Total	335	7,04E+12				3,92E+07				8,39E+05				3,02E+05			

Post-hoc: Tukey

Périmètre	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1									
2	0,295								
3	1	0,458							
4	0,013•	0,976	0,03						
5	0,991	0,881	0,999	0,207					
6	0,99	0,883	0,999	0,206	1				
7	1	0,346	1	0,018	0,995	0,994			
8	0,913	0,983	0,977	0,443	1	1	0,938		
9	1	0,34	1	0,017	0,996	0,995	1	0,941	

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

	Taille totale (cm)		Taille standard (cm)		Poids (g)		Indice de condition	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
EDM	2,698	2,29E-02	2,15	1,87E-02	0,144	4,41E-03	1,40E-02	1,79E-04
0,35 mg.l^{-1}	2,659	1,99E-02	2,109	1,58E-02	0,136	3,81E-03	1,40E-02	1,78E-04
3,5 mg.l^{-1}	2,591	3,88E-02	2,054	3,07E-02	0,121	6,24E-03	1,36E-02	3,11E-04
3,5 mg.l^{-1} p	2,588	3,65E-02	2,07	2,86E-02	0,117	5,77E-03	1,30E-02	3,17E-04
35 mg.l^{-1}	2,452	5,22E-02	1,956	4,30E-02	0,111	8,77E-03	1,41E-02	4,21E-04

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov

	Taille totale (cm)	andard (cm)	Poids (g)	e condition
	N	Max D	Max D	Max D
EDM	134	8,57E-02	1,12E-01	5,87E-02	1,300E-1•
0,35 mg.l^{-1}	159	8,07E-02	1,04E-01	5,71E-02	7,22E-02
3,5 mg.l^{-1}	28	1,71E-01	1,84E-01	2,23E-01	1,07E-01
3,5 mg.l^{-1} p	34	1,06E-01	1,05E-01	1,67E-01	8,89E-02
35 mg.l^{-1}	22	1,55E-01	1,35E-01	1,80E-01	9,93E-02

Homogénéité des variance: Test de Levene

	SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Taille tota	1,09E-01	4	2,72E-02	8,258	372	2,22E-02	1,223	0,3
Taille stan	8,58E-02	4	2,15E-02	5,617	372	1,51E-02	1,421	0,226
Poids (g)	1,00E-02	4	2,51E-03	2,81E-01	372	7,55E-04	3,323	0,011
Indice de c	1,00E-05	4	3,00E-06	6,94E-04	372	2,00E-06	1,347	0,252

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur

		Taille totale				Taille standard				Poids				Indice de condition (Fulton)			
	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	P	SS	MS	F	P
Intercept	1	1356,745	1356,745	21760,21	<10^{-5}	859,59	859,59	21340,34	<10^{-5}	3,184	3,184	1454,741	<10^{-5}	0,038	0,038	8587,179	<10^{-5}
Traitement	4	1,401	0,35	5,62	2,12E-04	0,877	0,219	5,44	2,87E-04	0,041	0,01	4,666	1,11E-03	0	0	1,817	1,25E-01
Erreur	372	23,194	0,062			14,984	0,04			0,814	0,002			0,002	0		
Total	376	24,595				15,861				0,855				0,002			

Post-hoc: UN-HSD

Taille tota	EDM	0,35 mg.l^{-1}	3,5 mg.l^{-1}	3,5 mg.l^{-1} P	35 mg.l^{-1}	andard (cm)	EDM	0,35 mg.l^{-1}	3,5 mg.l^{-1}	3,5 mg.l^{-1} P	35 mg.l^{-1}	Poids (g)	EDM	0,35 mg.l^{-1}	3,5 mg.l^{-1}	3,5 mg.l^{-1} P	35 mg.l^{-1}
EDM						EDM						EDM					
0,35 mg.l^{-1}	0,673					0,35 mg.l^{-1}	0,416					0,35 mg.l^{-1}	0,558				
3,5 mg.l^{-1}	0,243	0,681				3,5 mg.l^{-1}	0,142	0,659				3,5 mg.l^{-1}	0,126	0,541			
3,5 mg.l^{-1} P	0,151	0,567	1			3,5 mg.l^{-1} P	0,231	0,839	0,998			3,5 mg.l^{-1} P	0,022	0,208	0,997		
35 mg.l^{-1}	0,0002	0,003	0,289	0,271		35 mg.l^{-1}	0,0003	0,007	0,426	0,229		35 mg.l^{-1}	0,015	0,117	0,928	0,985	

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA4 (D-G)

			Aire		Périmètre		Grand		Petit	
	N	ddl	t-value	p	t-value	p	t-value	p	t-value	p
EDM	124	123	-0,156	0,876	0,56	0,577	1,117	0,266	-1,533	0,128
0,35 mg.l	154	153	1,306	0,193	-0,811	0,418	1,025	0,307	0,408	0,684
3,5 mg.l^{-1} P	24	23	-0,92	0,367	-0,638	0,53	-2,082	0,049	1,145	0,264
3,5 mg.l	31	30	1,798	0,082	0,014	0,989	1,371	0,18	0,13	0,898
35 mg.l	22	21	0,842	0,409	0,145	0,886	1,197	0,245	-0,324	0,749
Bac 1	37	36	-0,703	0,487	1,291	0,205	0,417	0,679	-1,388	0,174
Bac 2	24	23	-0,92	0,367	-0,638	0,53	-2,082	0,049	1,145	0,264
Bac 3	43	42	0,954	0,345	0,021	0,984	1,603	0,116	-0,427	0,672
Bac 4	44	43	-0,499	0,62	-0,236	0,814	0,191	0,85	-0,891	0,378
Bac 5	52	51	2,024	0,048	-1,116	0,27	1,69	0,097	0,329	0,743
Bac 6	53	52	-0,516	0,608	-0,502	0,618	-0,933	0,355	0,204	0,839
Bac 7	49	48	1,253	0,216	1,409	0,165	1,457	0,152	0,182	0,856
Bac 8	19	18	1,389	0,182	-1,706	0,105	1,117	0,279	0,236	0,816
Bac 9	12	11	1,101	0,294	2,238	0,047	0,766	0,46	-0,008	0,993
Bac 10	22	21	0,842	0,409	0,145	0,886	1,197	0,245	-0,324	0,749

Valeurs: Données pour FA1 |D-G|

	|Aire|		|Périmètre|		|Grand|		|Petit|	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
EDM	1,46E+05	1,07E+04	300,246	35,068	61,204	4,034	32,075	2,597
0,35 mg.l	1,40E+05	8,62E+03	281,766	41,834	56,816	3,216	32,131	2,08
3,5 mg.l^{-1} P	1,19E+05	1,82E+04	183,257	30,896	66,26	8,894	26,114	3,525
3,5 mg.l	1,14E+05	2,28E+04	205,384	49,536	59,825	8,859	31,799	6,736
35 mg.l	1,45E+05	2,42E+04	260,28	49,261	55,083	11,273	32,614	6,617

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA4 (D-G)

		Aire				Périmètre				Grand				Petit			
	N	Moy	Max D	Skew	Kurt	Moy	Max D	Skew	Kurt	Moy	Max D	Skew	Kurt	Moy	Max D	Skew	Kurt
EDM	124	-2,64E+03	0,048	-0,273	0,142	24,771	0,145•	-0,55	11,314	7,597	0,065	-0,358	0,199	-5,904	0,075	-0,232	1,117
0,35 mg.l	154	1,85E+03	0,03	0,113	0,387	-38,569	0,211•	-4,433	33,857	5,73	0,059	-0,324	-0,158	1,356	0,049	-0,256	0,545
3,5 mg.l^{-1} P	31	4,85E+03	0,112	0,128	-0,006	0,651	0,125	-0,377	1,053	19,976	0,081	-0,223	0,126	0,769	0,109	-0,434	0,283
3,5 mg.l	24	-2,98E+03	0,117	0,481	1,53	-41,395	0,177	0,517	4,931	-29,215	0,153	0,895	1,673	10,524	0,152	0,35	1,325
35 mg.l	22	3,29E+03	0,1	0,205	0,118	10,881	0,141	1,368	2,393	19,083	0,153	0,695	1,419	-3,138	0,145	-0,091	0,664
Bac 1	37	-2,03E+03	0,081	0,419	-0,284	101,95	0,215	3,01	15,993	4,915	0,082	-0,124	-0,132	-9,091	0,132	-0,523	2,353
Bac 2	43	2,59E+03	0,062	-0,115	-0,168	1,609	0,145	-0,24	1,846	14,988	0,075	0,027	-0,369	-2,685	0,087	-0,568	2,256
Bac 3	44	-1,57E+03	0,124	-0,687	0,471	-17,494	0,178	-3,693	19,205	2,629	0,119	-0,452	-0,074	-6,369	0,074	0,113	0,214
Bac 4	52	3,83E+03	0,061	-0,296	0,167	-135,305	0,313••	-4,11	18,697	14,44	0,124	-0,278	-0,719	1,774	0,097	0,201	0,505
Bac 5	53	-1,42E+03	0,079	0,511	1,007	-29,895	0,194•	1,801	10,002	-10,031	0,055	-0,203	-0,418	1,03	0,06	-0,424	1,991
Bac 6	49	3,29E+03	0,065	0,015	-0,404	54,708	0,079	0,156	0,496	13,534	0,099	-0,221	0,353	1,265	0,091	-0,422	-0,165
Bac 7	19	5,08E+03	0,108	-0,037	-0,184	-90,594	0,199	-1,055	0,649	20,68	0,112	0,033	0,338	1,323	0,198	0,498	-0,94
Bac 8	12	4,49E+03	0,186	0,537	1,316	145,12	0,145	0,387	-0,096	18,862	0,126	-0,634	0,46	-0,109	0,184	-0,633	-0,423
Bac 9	22	3,29E+03	0,1	0,205	0,118	10,881	0,141	1,368	2,393	19,083	0,153	0,695	1,419	-3,138	0,145	-0,091	0,664
Bac 10	24	-2,98E+03	0,117	0,481	1,53	-41,395	0,177	0,517	4,931	-29,215	0,153	0,895	1,673	10,524	0,152	0,35	1,325

Homogénéité des variance: Test de Levene sur FA4 (D-G)

		SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Concentrati	Aire	4,55E+10	4	1,14E+10	4,26E+12	350	1,22E+10	9,33E-01	0,445
	Périmètre	4,88E+05	4	1,22E+05	6,28E+07	350	1,80E+05	6,80E-01	0,606
	Grand	5,48E+03	4	1,37E+03	6,64E+05	350	1,90E+03	7,23E-01	0,577
	Petit	1,04E+03	4	2,59E+02	2,56E+05	350	7,31E+02	3,54E-01	0,841
Bac	Aire	1,29E+11	9	1,43E+10	4,12E+12	345	1,19E+10	1,199	0,295
	Périmètre	1,92E+06	9	2,13E+05	5,90E+07	345	1,71E+05	1,247	0,265
	Grand	2,48E+04	9	2,75E+03	6,27E+05	345	1,82E+03	1,515	0,141
	Petit	7,96E+03	9	8,84E+02	2,47E+05	345	7,17E+02	1,233	0,274

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA1 |D-G|

		Aire				Périmètre				Grand				Petit			
	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	3,29E+12	3,29E+12	265,043	< 2,2E-16	1,13E+07	1,13E+07	62,497	< 2,2E-16	6,68E+05	6,68E+05	350,484	< 2,2E-16	1,79E+05	1,79E+05	239,168	< 2,2E-16
Concentrati	4	3,38E+10	8,45E+09	0,681	0,606	4,67E+05	1,17E+05	0,645	0,631	3,30E+03	8,25E+02	0,432	0,785	1,03E+03	2,57E+02	0,344	0,848
Erreur	350	4,35E+12	1,24E+10			6,34E+07	1,81E+05			6,67E+05	1,91E+03			2,62E+05	7,47E+02		
Total	354	4,38E+12				6,38E+07				6,71E+05				2,63E+05			
Intercept	1	5,14E+12	5,14E+12	414,07	< 2,2E-16	1,87E+07	1,87E+07	103,294	< 2,2E-16	1,02E+06	1,02E+06	541,233	< 2,2E-16	2,76E+05	2,76E+05	373,138	< 2,2E-16
Bac	9	9,90E+10	1,10E+10	0,886	0,538	1,35E+06	1,50E+05	0,827	0,591	2,15E+04	2,38E+03	1,267	0,254	7,80E+03	8,67E+02	1,173	0,311
Erreur	345	4,28E+12	1,24E+10			6,25E+07	1,81E+05			6,49E+05	1,88E+03			2,55E+05	7,39E+02		
Total	354	4,38E+12				6,38E+07				6,71E+05				2,63E+05			

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

	Taille totale (cm)		Taille standard (cm)		Poids (g)		Indice de condition	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
EDM	3,325	2,91E-02	2,713	2,46E-02	0,258	8,34E-03	1,25E-02	1,75E-04
3,5 mg.l^{-1}	3,162	2,31E-02	2,579	2,02E-02	0,214	5,54E-03	1,23E-02	1,76E-04
7 mg.l^{-1}	3,226	2,74E-02	2,635	2,20E-02	0,23	6,93E-03	1,23E-02	1,48E-04
17,5 mg.l^{-1}	3,155	3,63E-02	2,583	3,09E-02	0,225	9,13E-03	1,28E-02	2,17E-04

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov

	Taille totale (cm)	andard (cm)	Poids (g)	e condition
	N	Max D	Max D	Max D
EDM	90	7,04E-02	8,58E-02	6,87E-02	1,38E-01
3,5 mg.l^{-1}	91	1,06E-01	1,05E-01	6,19E-02	1,13E-01
7 mg.l^{-1}	85	7,98E-02	1,05E-01	1,25E-01	6,82E-02
17,5 mg.l^{-1}	48	1,02E-01	1,05E-01	9,32E-02	1,52E-01

Homogénéité des variance: Test de Levene

	SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Taille tota	1,07E-01	3	3,57E-02	7,303	310	2,36E-02	1,516	0,21
Taille star	8,89E-02	3	2,96E-02	5,175	310	1,67E-02	1,774	0,152
Poids (g)	2,06E-02	3	6,87E-03	5,09E-01	310	1,64E-03	4,184	0,006
Indice de c	2,00E-06	3	1,00E-06	3,51E-04	310	1,00E-06	0,505	0,679

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur

		Taille totale				Taille standard				Poids				Indice de condition (Fulton)			
	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	3027,083	3027,083	48157,7	<10^{-5}	2019,424	2019,424	45446,47	<10^{-5}	15,714	15,714	3639,334	<10^{-5}	0,046	0,046	18562,39	<10^{-5}
Traitement	3	1,5	0,5	7,96	4,00E-05	0,956	0,319	7,17	1,14E-04	0,092	0,031	7,092	1,27E-04	0	0	1,26	2,88E-01
Erreur	310	19,486	0,063			13,775	0,044			1,339	0,004			0,001	0		
Total	313	20,986				14,731				1,43				0,001			

Post-hoc: UN-HSD

Taille tota	EDM	3,5 mg.l^{-1}	7 mg.l^{-1}	17,5 mg.l^{-1}	andard (cm)	EDM	3,5 mg.l^{-1}	7 mg.l^{-1}	17,5 mg.l^{-1}	Poids (g)	EDM	3,5 mg.l^{-1}	7 mg.l^{-1}	17,5 mg.l^{-1}
EDM					EDM					EDM				
3,5 mg.l^{-1}	7,80E-05				3,5 mg.l^{-1}	1,29E-04				3,5 mg.l^{-1}	5,20E-05			
7 mg.l^{-1}	4,89E-02	3,38E-01			7 mg.l^{-1}	7,43E-02	3,14E-01			7 mg.l^{-1}	3,11E-02	3,75E-01		
17,5 mg.l^{-1}	5,03E-03	9,99E-01	5,11E-01		17,5 mg.l^{-1}	1,40E-02	1,00E+00	6,31E-01		17,5 mg.l^{-1}	7,10E-02	8,38E-01	9,82E-01	

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA4 (D-G)

				Aire		Périmètre		Grand		Petit	
		ddl	N	t-value	p	t-value	p	t-value	p	t-value	p
Bino	0 mg.l	36	37	-0,528	0,601	-0,962	0,343	-0,106	0,916	-0,701	0,488
	3,5 mg.l	6	7	-1,275	0,249	-0,11	0,916	-1,727	0,135	-0,148	0,887
	7 mg.l	12	13	-0,68	0,51	-1,024	0,326	1,131	0,28	-1,528	0,152
	17,5 mg.l	7	8	-1,819	0,112	-1,398	0,205	-1,441	0,193	-1,485	0,181
Micro	0 mg.l	34	35	-0,106	0,916	-0,426	0,672	0,218	0,829	-0,328	0,745
	3,5 mg.l	72	73	-0,428	0,67	-0,551	0,583	-0,968	0,336	0,648	0,519
	7 mg.l	74	75	-0,384	0,702	0,017	0,987	0,259	0,797	-0,75	0,456
	17,5 mg.l	34	35	-0,38	0,706	-1,575	0,125	-0,489	0,628	-0,116	0,908
	Bac 1	16	17	-0,035	0,972	-0,152	0,881	0,72	0,482	-0,622	0,543
	Bac 2	7	8	0,245	0,813	0,276	0,79	0,334	0,748	0,079	0,939
	Bac 5	17	18	-0,12	0,906	-0,51	0,616	-0,472	0,643	0,196	0,847
	Bac 6	17	18	-0,828	0,419	-2,577	0,02	-1,077	0,296	0,06	0,953
	Bac 7	35	36	-0,018	0,986	-0,594	0,557	-0,41	0,684	0,7	0,488
	Bac 8	36	37	-0,852	0,4	-0,099	0,922	-1,238	0,224	0,222	0,826
	Bac 9	40	41	-0,189	0,851	0,13	0,897	0,245	0,808	-0,498	0,621
	Bac 10	33	34	-0,394	0,696	-0,168	0,868	0,106	0,916	-0,579	0,567
	Bac 11	8	9	-0,114	0,912	1,169	0,276	0,134	0,896	-0,457	0,66

Valeurs: Données pour FA1 |D-G|

	|Aire|		|Périmètre|		|Grand|		|Petit|	
Binoculaire	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
0	1,82E+04	2,10E+03	59,766	6,374	19,37	2,484	11,365	1,35
3,5	1,09E+04	2,43E+03	70,936	27,719	12,657	3,57	7,838	2,295
7	1,11E+04	3,23E+03	58,126	15,56	14,413	2,841	13,098	2,721
17,5	1,84E+04	6,42E+03	93,385	23,028	21,847	5,48	13,262	3,837
Microscope	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
0	1,77E+05	2,47E+04	203,884	34,084	50,071	7,663	37,842	6,496
3,5	1,87E+05	2,05E+04	212,076	31,393	63,51	7,962	34,721	3
7	2,13E+05	2,24E+04	189,895	21,295	66,696	6,395	43,178	4,262
17,5	2,24E+05	3,05E+04	186,71	27,027	67,568	10,695	38,538	5,262

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA4 (D-G)

			Aire				Périmètre				Grand				Petit			
		N	Moy	Max D	Skew	Kurt	Moy	Max D	Skew	Kurt	Moy	Max D	Skew	Kurt	Moy	Max D	Skew	Kurt
Bino	0	37	-1,94E+03	0,118	0,259	0,051	-11,229	0,084	0,06	-0,864	-0,431	0,071	0,307	0,005	-1,619	0,118	0,633	0,461
	3,5	7	-5,74E+03	0,151	0,12	-0,847	-4,404	0,24	-0,053	0,811	-8,865	0,15	0,276	-0,016	-0,583	0,228	-0,873	-0,378
	7	13	-3,04E+03	0,195	-0,382	1,731	-22,462	0,189	-1,149	1,277	5,418	0,134	-0,519	-0,364	-6,513	0,116	0,074	0,238
	17,5	8	-1,42E+04	0,198	-0,924	1,498	-52,089	0,159	-0,1	-0,923	-12,544	0,232	0,913	2,581	-8,176	0,206	-0,237	-0,43
Micro	0	35	-4,15E+03	0,065	0,19	0,328	-20,77	0,115	-1,075	3,939	2,507	0,107	-0,172	0,578	-3,01	0,133	-0,174	2,348
	3,5	73	-1,29E+04	0,106	0,034	2,488	-22,059	0,139	-2,452	14,804	-10,508	0,095	0,706	7,275	3,278	0,063	0,14	-0,531
	7	75	-1,28E+04	0,073	1,023	4,475	0,509	0,076	-0,162	4,524	2,598	0,064	0,854	2,945	-4,917	0,074	0,378	1,327
	17,5	35	-1,86E+04	0,091	-0,295	1,443	-63,715	0,104	-0,523	-0,29	-7,689	0,12	-0,329	1,102	-0,982	0,082	0,113	-0,146
	Bac 1	17	-2,19E+03	0,135	0,647	0,612	-12,574	0,222	-1,481	5,224	12,689	0,09	-0,417	1,119	-8,723	0,117	1,23	2,549
	Bac 2	8	2,88E+04	0,233	0,815	1,696	19,881	0,189	-0,14	-0,132	9,36	0,14	0,7	0,044	1,539	0,223	0,372	-0,565
	Bac 5	18	-6,00E+03	0,155	-0,578	0,052	-28,511	0,092	-0,077	-0,459	-7,108	0,159	-0,015	0,871	2,384	0,263	-1,953	5,463
	Bac 6	18	-4,14E+04	0,144	0,096	-1,363	-159,192	0,127	-0,037	-0,792	-21,818	0,144	-0,248	1,537	0,752	0,088	0,303	-0,024
	Bac 7	36	-9,81E+02	0,111	-0,133	1,575	-40,22	0,225	-3,216	15,242	-7,936	0,12	0,648	5,855	4,989	0,094	-0,267	-0,475
	Bac 8	37	-2,44E+04	0,109	0,531	-0,513	-4,39	0,164	0,654	1,757	-13,011	0,093	0,383	0,179	1,614	0,11	0,511	-0,367
	Bac 9	41	-9,46E+03	0,108	1,55	5,685	6,145	0,118	-0,139	5,169	3,511	0,118	1,343	5,088	-4,826	0,129	0,786	1,86
	Bac 10	34	-1,69E+04	0,062	-0,387	-0,215	-6,287	0,101	-0,317	-0,184	1,497	0,078	0,042	-0,745	-5,028	0,118	-0,542	-0,238
	Bac 11	9	-1,52E+04	0,188	-1,173	1,882	52,932	0,204	-0,43	0,982	5,415	0,197	-0,863	2,092	-6,693	0,273	-1,323	0,754

Homogénéité des variance: Test de Levene sur FA4 (D-G)

			SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Bino	ıcentration	Aire	8,41E+08	3	2,81E+08	9,33E+09	61	1,53E+08	1,834	0,15
		Périmètre	3,65E+03	3	1,22E+03	1,41E+05	61	2,31E+03	5,25E-01	0,667
		Grand	7,03E+02	3	2,34E+02	1,20E+04	61	1,96E+02	1,197	0,319
		Petit	7,11E+01	3	2,37E+01	4,41E+03	61	7,23E+01	3,28E-01	0,805
Micro	ıcentration	Aire	6,59E+10	3	2,20E+10	6,83E+12	214	3,19E+10	6,88E-01	0,56
		Périmètre	2,30E+04	3	7,67E+03	9,76E+06	214	4,56E+04	1,68E-01	0,918
		Grand	7,61E+03	3	2,54E+03	7,63E+05	214	3,57E+03	7,12E-01	0,546
		Petit	2,53E+03	3	8,42E+02	2,29E+05	214	1,07E+03	7,88E-01	0,502
	Bac	Aire	3,28E+11	8	4,10E+10	6,58E+12	209	3,15E+10	1,301	0,245
		Périmètre	2,07E+05	8	2,59E+04	9,43E+06	209	4,51E+04	5,74E-01	0,799
		Grand	2,86E+04	8	3,57E+03	7,38E+05	209	3,53E+03	1,012	0,428
		Petit	4,39E+03	8	5,48E+02	2,27E+05	209	1,09E+03	5,05E-01	0,852

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA1 |D-G|

			Aire				Périmètre				Grand				Petit			
		ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Bino	Intercept	1	9,25E+09	9,25E+09	56,143	< 2,2E-16	2,14E+05	2,14E+05	84,935	< 2,2E-16	1,25E+04	1,25E+04	65,415	< 2,2E-16	5,58E+03	5,58E+03	73,581	< 2,2E-16
	Concentration	3	7,26E+08	2,42E+08	1,469	0,232	8,32E+03	2,77E+03	1,099	0,356	5,55E+02	1,85E+02	0,965	0,415	1,52E+02	5,08E+01	0,669	0,574
	Erreur	61	1,01E+10	1,65E+08			1,54E+05	2,52E+03			1,17E+04	1,92E+02			4,63E+03	7,59E+01		
	Total	64	1,08E+10				1,62E+05				1,23E+04				4,78E+03			
Micro	Intercept	1	7,63E+12	7,63E+12	239,651	< 2,2E-16	7,46E+06	7,46E+06	160,53	< 2,2E-16	7,30E+05	7,30E+05	203,825	< 2,2E-16	2,83E+05	2,83E+05	261,635	< 2,2E-16
	Concentration	3	6,29E+10	2,10E+10	0,658	0,579	2,48E+04	8,27E+03	0,178	0,911	7,62E+03	2,54E+03	0,71	0,547	2,69E+03	8,95E+02	0,828	0,48
	Erreur	214	6,81E+12	3,18E+10			9,95E+06	4,65E+04			7,66E+05	3,58E+03			2,31E+05	1,08E+03		
	Total	217	6,88E+12				9,97E+06				7,74E+05				2,34E+05			
	Intercept	1	6,75E+12	6,75E+12	214,74	< 2,2E-16	5,68E+06	5,68E+06	121,831	< 2,2E-16	6,33E+05	6,33E+05	176,559	< 2,2E-16	2,30E+05	2,30E+05	209,463	< 2,2E-16
	Bac	8	3,08E+11	3,84E+10	1,223	0,287	2,31E+05	2,88E+04	0,618	0,762	2,47E+04	3,09E+03	0,863	0,549	4,63E+03	5,78E+02	0,527	0,835
	Erreur	209	6,57E+12	3,14E+10			9,74E+06	4,66E+04			7,49E+05	3,58E+03			2,29E+05	1,10E+03		
	Total	217	6,88E+12				9,97E+06				7,74E+05				2,34E+05			

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

	Taille totale (cm)		Taille standard (cm)		Poids (g)		Indice de condition	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
EDM	2,638	1,87E-02	2,073	1,49E-02	0,128	3,04E-03	1,40E-02	1,51E-04
3,5 mg.l^{-1}	2,594	1,97E-02	2,038	1,62E-02	0,127	3,37E-03	1,46E-02	2,87E-04
10,5 mg.l^{-1}	2,53	1,98E-02	1,974	1,36E-02	0,11	2,83E-03	1,38E-02	1,49E-04
17,5 mg.l^{-1}	2,409	2,38E-02	1,898	1,82E-02	0,091	3,48E-03	1,27E-02	2,51E-04

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov

	EDM		3,5 mg.l^{-1}		10,5 mg.l^{-1}		17,5 mg.l^{-1}	
	N	Max D	N	Max D	N	Max D	N	Max D
Taille tota	172	5,28E-02	170	8,56E-02	163	6,93E-02	101	6,04E-02
Taille stan	172	4,65E-02	170	7,04E-02	164	4,34E-02	101	6,03E-02
Poids (g)	172	3,04E-02	169	5,38E-02	164	5,90E-02	101	6,91E-02
Indice de c	172	1,332E-1••	170	1,767E-1••	164	9,19E-02	101	9,23E-02

Homogénéité des variance: Test de Levene

	SS	df	MS	SS erreur	df Erreur	MS Erreur	F	p
Taille tota	4,08E-02	3	1,36E-02	13,96461	602	2,32E-02	0,585611	0,625
Taille stan	8,59E-02	3	2,86E-02	8,07739	603	1,34E-02	2,137048	0,094
Poids (g)	4,83E-03	3	1,61E-03	3,30E-01	602	5,48E-04	2,936512	0,033
Indice de c	6,00E-05	3	2,00E-05	2,60E-03	603	4,00E-06	4,630675	0,003

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur

		Taille totale				Taille standard				Poids			
	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	P
Intercept	1	3725,966	3725,966	59821,29	< 2,2E-16	2295,605	2295,605	61849,17	< 2,2E-16	7,497	7,497	4857,954	< 2,2E-16
Traitement	3	3,731	1,244	19,97	< 2,2E-16	2,291	0,764	20,58	< 2,2E-16	0,115	0,038	24,798	< 2,2E-16
Erreur	601	37,433	0,062			22,307	0,037			0,927	0,002		
Total	604	41,164				24,598				1,042			

Post-hoc: UN-HSD

Taille tota	EDM	3,5 mg.l^{-1}	10,5 mg.l^{-1}	17,5 mg.l^{-1}
EDM				
3,5 mg.l^{-1}	3,82E-01			
10,5 mg.l^{-1}	5,06E-04	8,31E-02		
17,5 mg.l^{-1}	8,00E-06	8,00E-06	3,19E-03	

Taille stan	EDM	3,5 mg.l^{-1}	10,5 mg.l^{-1}	17,5 mg.l^{-1}
EDM				
3,5 mg.l^{-1}	3,53E-01			
10,5 mg.l^{-1}	3,10E-05	1,50E-02		
17,5 mg.l^{-1}	8,00E-06	9,00E-06	2,34E-02	

Poids (g)	EDM	3,5 mg.l^{-1}	10,5 mg.l^{-1}	17,5 mg.l^{-1}
EDM				
3,5 mg.l^{-1}	9,93E-01			
10,5 mg.l^{-1}	2,30E-04	6,90E-04		
17,5 mg.l^{-1}	8,00E-06	8,00E-06	2,57E-03	

Comparaison des moyennes : Kruskal Wallis

	N	ddl	H	p
Indice de c	606	3	30,55201	< 2,2E-16

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA4 (D-G)

			Aire		Périmètre		Grand		Petit	
	N	ddl	t-value	p	t-value	p	t-value	p	t-value	p
0 mg.l	149	148	-0,044	0,965	-0,924	0,357	-1,449	0,149	1,531	0,128
3,5 mg.l	152	151	1,755	0,081	0,326	0,745	0,429	0,669	1,79	0,075
10,5 mg.l	153	152	2,005	0,047	0,928	0,355	-0,183	0,855	2,579	0,011
17,5 mg.l	98	97	-0,13	0,897	0,358	0,721	-0,939	0,35	0,675	0,501
Bac 1	43	42	-0,167	0,869	0,681	0,5	-0,301	0,765	0,297	0,768
Bac 2	53	52	0,274	0,786	-0,931	0,356	-0,234	0,816	0,562	0,576
Bac 3	36	35	1,73	0,092	0,951	0,348	-1,168	0,251	3,522	0,001
Bac 4	22	21	1,287	0,212	1,131	0,271	0,549	0,589	1,193	0,246
Bac 5	53	52	0,27	0,788	-1,57	0,123	-0,237	0,813	0,558	0,579
Bac 6	47	46	0,249	0,804	0,587	0,56	-0,179	0,858	0,507	0,614
Bac 7	26	25	-0,556	0,583	0,596	0,557	0,135	0,893	-0,765	0,452
Bac 8	21	20	-0,326	0,748	-0,093	0,927	-1,784	0,09	0,914	0,372
Bac 9	42	41	0,303	0,763	0,499	0,621	0,731	0,469	-0,215	0,831
Bac 10	53	52	-0,178	0,859	-0,763	0,449	-1,795	0,078	1,614	0,113
Bac 11	52	51	2,45	0,018	0,495	0,622	0,922	0,361	2,148	0,037
Bac 12	43	42	0,748	0,459	-0,236	0,814	-0,415	0,68	1,411	0,166
Bac 13	10	9	-1,781	0,109	-0,834	0,426	-0,895	0,394	-1,097	0,301
Bac 14	19	18	0,284	0,78	-0,559	0,583	-0,766	0,454	0,89	0,385
Bac 15	32	31	1,428	0,163	1,022	0,315	1,096	0,282	0,718	0,478

Valeurs: Données pour FA1 |D-G|

	|Aire|		|Périmètre|		|Grand|		|Petit|	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
0	0,26%	0,02%	2,40%	0,18%	0,80%	0,05%	0,57%	0,04%
3,5	0,24%	0,02%	2,20%	0,19%	0,76%	0,05%	0,55%	0,04%
10,5	0,23%	0,02%	2,32%	0,18%	0,77%	0,06%	0,55%	0,04%
17,5	0,23%	0,02%	2,06%	0,18%	0,71%	0,06%	0,54%	0,04%

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA4 (D-G)

		Aire				Périmètre				Grand				Petit			
	N	Moy	Max D	Skew	Kurt	Moy	Max D	Skew	Kurt	Moy	Max D	Skew	Kurt	Moy	Max D	Skew	Kurt
0	149	0,00%	0,054	-0,328	0,734	-0,24%	0,083	-0,907	1,934	-0,12%	0,061	-0,343	1,084	0,09%	0,055	-0,274	0,747
3,5	152	0,05%	0,066	-0,475	1,23	0,08%	0,097	-0,437	4,236	0,04%	0,056	-0,52	2,482	0,10%	0,067	-0,521	1,207
10,5	153	0,05%	0,061	0,473	2,164	0,24%	0,09	0,776	4,327	-0,02%	0,072	-0,647	3,465	0,15%	0,057	-0,118	1,663
17,5	98	0,00%	0,077	0,29	0,871	0,10%	0,067	-0,092	0,539	-0,09%	0,067	0,056	0,316	0,05%	0,059	0,187	0,543
Bac 1	43	-0,01%	0,092	-0,354	0,826	0,30%	0,117	-0,835	0,464	-0,05%	0,149	-1,164	3,571	0,03%	0,095	-0,126	-0,456
Bac 2	53	0,01%	0,065	-0,327	0,184	-0,28%	0,084	-0,079	0,436	-0,03%	0,077	0,115	0,603	0,06%	0,127	-0,883	1,972
Bac 3	36	0,09%	0,151	1,499	4,911	0,52%	0,104	0,096	0,899	-0,23%	0,166	-0,765	0,43	0,43%	0,112	0,99	1,192
Bac 4	22	0,10%	0,174	0,91	1,499	0,59%	0,173	0,947	2,36	0,11%	0,146	0,028	0,357	0,20%	0,111	0,47	1,519
Bac 5	53	0,01%	0,065	-0,32	0,172	-0,49%	0,06	-0,523	1,121	-0,03%	0,077	0,114	0,594	0,06%	0,128	-0,882	1,968
Bac 6	47	0,01%	0,094	-0,329	1,007	0,33%	0,121	-0,128	2,971	-0,03%	0,094	-0,197	-0,578	0,05%	0,06	0,026	-0,245
Bac 7	26	-0,03%	0,165	-0,719	0,224	0,42%	0,141	-0,611	-0,158	0,03%	0,097	0,147	-0,476	-0,10%	0,137	-0,429	-0,582
Bac 8	21	-0,02%	0,131	-0,462	-0,154	-0,04%	0,115	0,359	0,57	-0,24%	0,127	0,207	-0,828	0,14%	0,13	0,324	0,702
Bac 9	42	0,02%	0,091	0,276	1,584	0,21%	0,104	-0,205	1,967	0,10%	0,096	0,624	0,843	-0,03%	0,107	-1,122	2,162
Bac 10	53	-0,01%	0,066	-0,291	0,355	-0,44%	0,133	-0,868	1,065	-0,27%	0,082	0,271	-0,685	0,17%	0,054	0,138	-0,568
Bac 11	52	0,11%	0,128	-0,848	3,449	0,23%	0,137	-1,174	5,323	0,15%	0,12	-1,026	4,217	0,19%	0,12	-0,479	1,855
Bac 12	43	0,03%	0,085	-0,093	0,446	-0,14%	0,18	1,739	7,257	-0,08%	0,115	-1,039	5,712	0,14%	0,087	0,165	0,002
Bac 13	10	-0,16%	0,174	0,016	-1,549	-0,77%	0,145	-0,282	-0,819	-0,29%	0,181	-1,418	2,975	-0,24%	0,124	0,413	0,083
Bac 14	19	0,02%	0,201	1,048	0,318	-0,31%	0,103	0,378	0,011	-0,18%	0,157	0,463	0,133	0,12%	0,102	-0,127	-1,067
Bac 15	32	0,06%	0,086	-0,122	-1	0,48%	0,073	-0,028	-0,028	0,16%	0,117	0,658	0,426	0,09%	0,062	-0,029	-0,172

Homogénéité des variance: Test de Levene sur FA4 (D-G)

		SS	ddl	MS	SS erreur	ddl Erreur	MS Erreur	F	p
Concentrati	Aire	8,12E-06	3	2,71E-06	2,23E-03	548	4,06E-06	6,67E-01	0,573
	Périmètre	7,64E-04	3	2,55E-04	2,53E-01	548	4,62E-04	5,51E-01	0,647
	Grand	4,48E-05	3	1,49E-05	2,38E-02	548	4,34E-05	3,44E-01	0,794
	Petit	3,31E-06	3	1,10E-06	1,15E-02	548	2,10E-05	5,25E-02	0,984
Bac	Aire	5,89E-05	14	4,21E-06	2,13E-03	537	3,96E-06	1,063	0,389
	Périmètre	1,17E-02	14	8,36E-04	2,41E-01	537	4,49E-04	1,862	0,028•
	Grand	6,37E-04	14	4,55E-05	2,27E-02	537	4,22E-05	1,079	0,374
	Petit	1,80E-04	14	1,28E-05	1,07E-02	537	1,99E-05	6,45E-01	0,828

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA1 |D-G|

		Aire				Périmètre				Grand				Petit			
	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	3,07E-03	3,07E-03	746,367	< 2,2E-16	2,69E-01	2,69E-01	581,046	< 2,2E-16	3,07E-02	3,07E-02	703,633	< 2,2E-16	1,61E-02	1,61E-02	761,342	< 2,2E-16
Concentrati	3	6,79E-06	2,26E-06	0,55	0,649	7,88E-04	2,63E-04	0,568	0,636	4,33E-05	1,44E-05	0,331	0,803	5,39E-06	1,80E-06	0,085	0,968
Erreur	548	2,26E-03	4,12E-06			2,54E-01	4,63E-04			2,39E-02	4,36E-05			1,16E-02	2,12E-05		
Total	551	2,26E-03				2,54E-01				2,39E-02				1,16E-02			
Intercept	1	2,50E-03	2,50E-03	609,806	< 2,2E-16	2,18E-01	2,18E-01	482,637	< 2,2E-16	2,49E-02	2,49E-02	576,736	< 2,2E-16	1,33E-02	1,33E-02	624,49	< 2,2E-16
Bac	14	5,85E-05	4,18E-06	1,018	0,433	1,16E-02	8,31E-04	1,84	0,030•	7,16E-04	5,11E-05	1,182	0,285	2,00E-04	1,43E-05	0,673	0,801
Erreur	537	2,20E-03	4,10E-06			2,43E-01	4,52E-04			2,32E-02	4,32E-05			1,14E-02	2,12E-05		
Total	551	2,26E-03				2,54E-01				2,39E-02				1,16E-02			

Forme des *Sagittae*

ACP: Variance expliquée par composante principale

Harmoniques Utilisées 1 à 21			
Composante	Valeurs pro	Variation e	Cumul de variation en %
1	6,82E-04	26,9	26,9
2	4,27E-04	16,8	43,7
3	2,91E-04	11,5	55,2
4	2,06E-04	8,1	63,3
5	1,61E-04	6,3	69,6
6	1,23E-04	4,8	74,5
7	1,07E-04	4,2	78,7
8	8,45E-05	3,3	82
9	6,26E-05	2,5	84,5
10	5,40E-05	2,1	86,6

Harmoniques Utilisées 2 à 21			
Composante	Valeurs pro	Variation e	Cumul de variation en %
1	5,02E-04	25,2	25,2
2	2,99E-04	15	40,2
3	2,22E-04	11,2	51,4
4	1,79E-04	9	60,3
5	1,26E-04	6,3	66,7
6	1,07E-04	5,4	72
7	8,55E-05	4,3	76,3
8	6,39E-05	3,2	79,5
9	5,40E-05	2,7	82,3
10	3,85E-05	1,9	84,2

Analyse canonique des coordonnées principales

Distance ut	Harmoniques	Facteur de	N	m	% Variation	ssres	d_1^2	d_2^2	d_3^2	Succès d'Allocation Témoin	3,5 mg.l^{-1}	10,5 mg.l^{-1}	17,5 mg.l^{-1}	Total
Euclidienne	1 à 21	Concentrati	564	60	99,91%	3,0652	0,3658	0,1308	0,0665	56,58%	31,82%	29,56%	39,39%	39,18%
Euclidienne	2 à 21	Concentrati	564	59	99,88%	3,0532	0,3649	0,1307	0,0665	57,24%	29,22%	29,56%	40,40%	38,83%

Contre-validation: *Leave one out test*

	Classement	H1 à 21					H2 à 21				
		Témoin	3,5 mg.l^{-1}	10,5 mg.l^{-1}	17,5 mg.l^{-1}	Correct	Témoin	3,5 mg.l^{-1}	10,5 mg.l^{-1}	17,5 mg.l^{-1}	Correct
Origine	Témoin	86	36	16	14	56,58%	87	33	19	13	57,24%
	3,5 mg.l^{-1}	47	49	31	27	31,82%	49	45	32	28	29,22%
	10,5 mg.l^{-1}	16	39	47	57	29,56%	16	40	47	56	29,56%
	17,5 mg.l^{-1}	9	21	30	39	39,39%	9	21	29	40	40,40%

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

Année	Station	Prélèvement	N	Longeur Standard (mm) Moyenne	SE	Poids Moyenne	SE
2013	3A	1 (10/07)	47	0,96	0,023	18,106	1,679
		2 (24/07)	53	1,29	0,039	57,636	5,893
		3 (30/07)	43	1,526	0,048	88,429	9,269

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur

	ddl	Longeur Standard SS	MS	F	p	Poids SS	MS	F	p
Intercept	1	224,322	224,322	3425,075	< 2,2E-16	424979,19	424979,19	230,543	< 2,2E-16
Prélèvement	2	7,369	3,684	56,255	< 2,2E-16	110466,744	55233,372	29,963	< 2,2E-16
Erreur	138	9,038	0,065			254387,015	1843,384		
Total	140	16,407				364853,759			

Post-hoc: Sheffé

Longeur Sta	1	2	3
1 (10/07)			
2 (24/07)	< 2,2E-16		
3 (30/07)	< 2,2E-16	1,00E-04	

Poids	1	2	3
1 (10/07)			
2 (24/07)	< 2,2E-16		
3 (30/07)	< 2,2E-16	4,90E-03	

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

Année	Station	Prélèvement	T	N	ddl	Aire t-value	p	FDR	Périmètre t-value	p	FDR	Longueur t-value	p	FDR	Largeur t-value	p	FDR	Grand t-value	p	FDR	Petit t-value	p	FDR
2013	A	1 (10/07)	0	40	39	1,448	0,156		-0,097	0,923		-0,561	0,578		0,043	0,966		0,176	0,862		1,698	0,098	
		2 (24/07)	14	54	53	0,932	0,356		-0,42	0,676		0,588	0,559		1,427	0,159		0,505	0,616		0,747	0,458	
		3 (30/07)	20	41	40	-0,419	0,677		0,027	0,979		-1,367	0,179		0,582	0,564		-0,65	0,52		0,454	0,652	

Valeurs: Données pour FA2 |D-G|/((D+G)/2)

Année	Station	Prélèvement	N	Aire Moyenne	SE	Périmètre Moyenne	SE	Longueur Moyenne	SE	Largeur Moyenne	SE	Grand Moyenne	SE	Petit Moyenne	SE
2013	A	1 (10/07)	40	1,49%	0,17%	3,21%	0,69%	1,50%	0,26%	1,64%	0,29%	1,00%	0,11%	1,13%	0,15%
		2 (24/07)	54	1,52%	0,15%	2,81%	0,25%	1,69%	0,22%	1,54%	0,18%	1,24%	0,14%	1,03%	0,10%
		3 (30/07)	41	1,37%	0,16%	3,58%	0,40%	2,05%	0,22%	1,50%	0,21%	1,53%	0,18%	0,91%	0,11%

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

Année	Station	Prélèvement	N	Aire Moy	Max D	Skew	Kurt	Périmètre Moy	Max D	Skew	Kurt	Longueur Moy	Max D	Skew	Kurt	Largeur Moy	Max D	Skew	Kurt	Grand Moy	Max D	Skew	Kurt	Petit Moy	Max D	Skew	Kurt
2013	A	1 (10/07)	40	0,42%	0,088	-0,36	0,138	-0,08%	0,212	-2,745	9,336	-0,20%	0,157	-1,911	9,294	0,02%	0,178	-1,509	6,082	0,03%	0,093	-0,052	-0,445	0,38%	0,093	-0,113	0,867
		2 (24/07)	54	0,24%	0,066	0,275	-0,314	-0,19%	0,08	-0,052	-0,54	0,19%	0,101	0,175	0,854	0,39%	0,095	-0,209	1,506	0,11%	0,083	0,377	0,435	0,13%	0,068	-0,001	-0,449
		3 (30/07)	41	-0,11%	0,054	-0,303	-0,212	0,02%	0,13	0,155	-0,489	-0,52%	0,088	0,264	-0,45	0,18%	0,116	0,182	0,122	-0,19%	0,069	-0,081	-0,407	0,08%	0,088	0,208	0,215

Homogénéité des variance: Test de Levene sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

Station	Nb Prélèvem	N	Aire F	Périmètre F	Longueur F	Largeur F	Grand F	Petit F
Site A	3	135	0,265	0,819	0,851	0,117	2,99	0,487

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA2 |D-G|/((D+G)/2)

3A	ddl	Aire SS	MS	F	p	Périmètre SS	MS	F	p	Longueur SS	MS	F	p	Largeur SS	MS	F	p	Grand SS	MS	F	p	Petit SS	MS	F	p
intercept	1	2,83%	2,83%	242,594	< 2,2E-16	13,57%	13,57%	150,984	< 2,2E-16	4,04%	4,04%	165,54	< 2,2E-16	3,22%	3,22%	144,267	< 2,2E-16	2,10%	2,10%	224,4	< 2,2E-16	1,39%	1,39%	228,624	< 2,2E-16
Jour	2	0,01%	0,00%	0,26	0,771	0,14%	0,07%	0,787	0,457	0,06%	0,03%	1,285	0,28	0,01%	0,00%	0,104	0,901	0,06%	0,03%	3,001	0,053	0,01%	0,01%	0,847	0,431
Erreur	132	1,54%	0,01%			11,86%	0,09%			3,22%	0,02%			2,95%	0,02%			1,23%	0,01%			0,80%	0,01%		
Total	134	1,55%				12,01%				3,28%				2,95%				1,29%				0,81%			

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

				Longeur Standard (mm)		Poids	
Année	**Station**	**Prélèvement**	**N**	**Moyenne**	**SE**	**Moyenne**	**SE**
2014	**3A**	**1 (23/06)**	89	0,971	0,006	13,146	0,268
		2 (03/07)	64	1,122	0,013	24,797	0,899
	3C	**1 (25/06)**	60	0,952	0,009	12,333	0,402
		2 (30/06)	68	1,163	0,018	29,603	1,593

Comparaisons des groupes: ANOVA à 2 facteurs

		Longeur Standard				Poids			
	ddl	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**
intercept	1	303,904	303,904	31336,409	< 2,2E-16	109570,76	109570,76	1902,285	< 2,2E-16
Station	1	0,008	0,008	0,819	0,3663	273,841	273,841	4,754	0,0301
Prélèvement	1	2,249	2,249	231,937	< 2,2E-16	14362,701	14362,701	249,354	< 2,2E-16
S*P	1	0,061	0,061	6,32	0,0125	542,144	542,144	9,412	0,0024
Erreur	277	2,686	0,01			15955,073	57,6		
Total	280	5,015				31362,94			

Post-hoc: Sheffé

Longeur Sta	**3A 1**	**3A 2**	**3C 1**	**3C 2**	Poids	**3A 1**	**3A 2**	**3C 1**	**3C 2**
3A 1					**3A 1**				
3A 2	< 2,2E-16				**3A 2**	< 2,2E-16			
3C 1	0,717275	< 2,2E-16			**3C 1**	0,9379	< 2,2E-16		
3C 2	< 2,2E-16	0,134826	< 2,2E-16		**3C 2**	< 2,2E-16	0,0048	< 2,2E-16	

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

						Aire			Périmètre			Longueur			Largeur			Grand			Petit		
Année	**Station**	**Prélèvement**	**T**	**N**	**ddl**	**t-value**	**p**	**FDR**	**t-value**	**p**	**FDR**	**t-value**	**p**	**FDR**	**t-value**	**p**	**FDR**	**t-value**	**p**	**FDR**	**t-value**	**p**	**FDR**
2014	**3A**	**1 (23/06)**	0	81	80	-1,349	0,181		-1,18	0,242		-0,571	0,57		-1,604	0,113		-0,459	0,648		-1,434	0,155	
		2 (03/07)	10	60	59	-2,011	0,049		-2,065	0,043•		-0,878	0,383		-0,744	0,46		-2,112	0,039		-0,376	0,708	
	3C	**1 (25/06)**	0	48	47	-1,276	0,208		-2,369	0,022•		-1,204	0,235		-0,483	0,631		-0,863	0,393		-0,955	0,345	
		2 (30/06)	10	64	63	-2,826	0,006		-2,167	0,034		-2,136	0,037		-0,313	0,755		-1,577	0,12		-1,88	0,065	

Valeurs: Données pour FA2 |D-G|/((D+G)/2)

				Aire		Périmètre		Longueur		Largeur		Grand		Petit	
Année	**Station**	**Prélèvement**	**N**	**Moyenne**	**SE**	**Moyenne**	**SE**	**Moyenne**	**SE**	**Moyenne**	**SE**	**Moyenne**	**SE**	**Moyenne**	**SE**
2014	**A**	**1 (23/06)**	81	1,42%	0,12%	2,00%	0,17%	1,26%	0,10%	1,20%	0,12%	1,09%	0,09%	0,91%	0,09%
		2 (03/07)	60	1,39%	0,13%	1,99%	0,19%	1,30%	0,13%	1,23%	0,14%	1,14%	0,11%	0,99%	0,09%
	B	**1 (25/06)**	48	1,40%	0,17%	2,18%	0,21%	1,48%	0,18%	1,23%	0,13%	1,12%	0,12%	0,92%	0,09%
		2 (30/06)	64	1,36%	0,13%	2,21%	0,21%	1,79%	0,17%	1,24%	0,12%	1,28%	0,11%	0,95%	0,10%

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

				Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
Année	**Station**	**Prélèvement**	**N**	**Moy**	**Max D**	**Skew**	**Kurt**	**Moy**	**Max D**	**Skew**	**Kurt**	**Moy**	**Max D**	**Skew**	**Kurt**	**Moy**	**Max D**	**Skew**	**Kurt**	**Moy**	**Max D**	**Skew**	**Kurt**	**Moy**	**Max D**	**Skew**	**Kurt**
2014	**A**	**1 (23/06)**	81	-0,26%	0,08	-0,393	0,115	-0,33%	0,058	0,057	-0,034	-0,10%	0,075	-0,197	-0,368	-0,29%	0,106	-0,256	0,827	-0,07%	0,072	0,471	-0,142	-0,19%	0,075	-0,613	2,23
		2 (03/07)	60	-0,44%	0,082	-0,311	-0,678	-0,63%	0,08	-0,031	-0,233	-0,19%	0,071	0,161	0,03	-0,16%	0,079	-0,677	0,906	-0,38%	0,06	-0,459	-0,054	-0,06%	0,067	0,028	-0,413
	B	**1 (25/06)**	48	-0,33%	0,082	-0,302	0,387	-0,86%	0,137	0,766	1,251	-0,33%	0,076	0,191	-0,081	-0,11%	0,09	-0,301	-0,446	-0,18%	0,058	-0,331	0,429	-0,16%	0,086	-0,485	0,934
		2 (30/06)	64	-0,580%•	0,07	-0,161	0,02	-0,73%	0,053	0,113	-0,124	-0,59%	0,071	-0,114	-0,464	-0,06%	0,059	0,061	0,376	-0,30%	0,084	0,41	-0,185	-0,28%	0,057	0,305	0,96

Homogénéité des variance: Test de Levene sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

			Aire	Périmètre	Longueur	Largeur	Grand	Petit
Station	**Nb Prélèvem**	**N**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**	**F**
Site A	**2**	**141**	0,012	0,24	0,034	0,025	0,008	0,501
Site B	**2**	**112**	0,064	0,449	2,186	0,007	0,57	0,002

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA2 |D-G|/((D+G)/2)

		Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
3A	**ddl**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**
intercept	1	2,73%	2,73%	255,758	< 2,2E-16	5,48%	5,48%	247,454	< 2,2E-16	2,26%	2,26%	251,897	< 2,2E-16	2,04%	2,04%	169,139	< 2,2E-16	1,72%	1,72%	249,652	< 2,2E-16	1,24%	1,24%	206,903	< 2,2E-16
Jour	1	0,00%	0,00%	0,035	0,853	0,00%	0,00%	0,003	0,954	0,00%	0,00%	0,037	0,847	0,00%	0,00%	0,025	0,874	0,00%	0,00%	0,1	0,753	0,00%	0,00%	0,401	0,528
Erreur	139	1,48%	0,01%			3,08%	0,02%			1,25%	0,01%			1,68%	0,01%			0,96%	0,01%			0,84%	0,01%		
Total	140	1,48%				3,08%				1,25%				1,68%				0,96%				0,84%			
		Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
3C	**ddl**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**
intercept	1	2,09%	2,09%	170,402	< 2,2E-16	5,29%	5,29%	205,42	< 2,2E-16	2,93%	2,93%	167,481	< 2,2E-16	1,67%	1,67%	182,146	< 2,2E-16	1,58%	1,58%	210,871	< 2,2E-16	0,96%	0,96%	187,963	< 2,2E-16
Jour	1	0,00%	0,00%	0,024	0,878	0,00%	0,00%	0,01	0,922	0,03%	0,03%	1,573	0,212	0,00%	0,00%	0	0,992	0,01%	0,01%	0,967	0,328	0,00%	0,00%	0,073	0,788
Erreur	110	1,35%	0,01%			2,83%	0,03%			1,93%	0,02%			1,01%	0,01%			0,82%	0,01%			0,56%	0,01%		
Total	111	1,35%				2,83%				1,95%				1,01%				0,83%				0,56%			

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

Année	Station	Prélèvement	N	Longeur Standard (mm) Moyenne	SE	Poids Moyenne	SE
2015	3A	1 (23/06)	72	1,153	0,011	30,243	0,982
		2 (03/07)	34	1,318	0,033	54,824	4,072
	3C	1 (25/06)	62	1,133	0,013	30,726	1,184
		2 (30/06)	35	1,335	0,025	57,8	3,981

Comparaisons des groupes: ANOVA à 2 facteurs

	ddl	Longeur Standard SS	MS	F	p	Poids SS	MS	F	p
intercept	1	276,063	276,063	18230,424	< 2,2E-16	340687,715	340687,715	1414,872	< 2,2E-16
Station	1	0,004	0,004	0,253	0,6155	103,081	103,081	0,428	0,5137
Prélèvement	1	1,636	1,636	108,05	< 2,2E-16	30276,806	30276,806	125,739	< 2,2E-16
S*P	1	0,006	0,006	0,403	0,526	57,963	57,963	0,241	0,6242
Erreur	198	2,998	0,015			47676,501	240,79		
Total	201	4,64				78276,025			

Post-hoc: Sheffé

Longeur Sta	3A 1	3A 2	3C 1	3C 2
3A 1				
3A 2	< 2,2E-16			
3C 1	0,836411	< 2,2E-16		
3C 2	< 2,2E-16	0,955735	< 2,2E-16	

Poids	3A 1	3A 2	3C 1	3C 2
3A 1				
3A 2	< 2,2E-16			
3C 1	0,998415	< 2,2E-16		
3C 2	< 2,2E-16	0,88659	< 2,2E-16	

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

Année	Station	Prélèvement	T	N	ddl	Aire t-value	p	FDR	Périmètre t-value	p	FDR	Longueur t-value	p	FDR	Largeur t-value	p	FDR	Grand t-value	p	FDR	Petit t-value	p	FDR
2015	3A	1 (23/06)	0	74	73	-1,943	0,056		-1,71	0,091		-1,206	0,232		-1,568	0,121		-1,631	0,107		-0,78	0,438	
		2 (03/07)	5	34	33	-1,192	0,242		-0,206	0,838		-0,333	0,741		0,36	0,721		-1,445	0,158		-0,207	0,838	
	3C	1 (25/06)	0	62	61	-1,745	0,086		1,221	0,227		-1,619	0,111		-1,561	0,124		-1,573	0,121		-0,707	0,482	
		2 (30/06)	5	34	33	-0,107	0,916		0,069	0,945		0,267	0,791		0,187	0,853		-1,115	0,273		1,106	0,277	

Valeurs: Données pour FA2 |D-G|/((D+G)/2)

Année	Station	Prélèvement	N	Aire Moyenne	SE	Périmètre Moyenne	SE	Longueur Moyenne	SE	Largeur Moyenne	SE	Grand Moyenne	SE	Petit Moyenne	SE
2015	3A	1 (23/06)	74	1,43%	0,12%	1,84%	0,16%	1,32%	0,12%	1,49%	0,15%	1,10%	0,11%	1,01%	0,11%
		2 (03/07)	34	1,26%	0,16%	2,61%	0,30%	1,58%	0,24%	1,56%	0,20%	0,89%	0,11%	1,09%	0,12%
	3C	1 (25/06)	62	1,46%	0,15%	2,21%	0,19%	1,28%	0,13%	1,30%	0,12%	1,25%	0,10%	0,98%	0,11%
		2 (30/06)	34	1,26%	0,19%	1,96%	0,31%	1,76%	0,25%	1,24%	0,15%	1,20%	0,20%	1,23%	0,15%

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

Année	Station	Prélèvement	N	Aire Moy	Max D	Skew	Kurt	Périmètre Moy	Max D	Skew	Kurt	Longueur Moy	Max D	Skew	Kurt	Largeur Moy	Max D	Skew	Kurt	Grand Moy	Max D	Skew	Kurt	Petit Moy	Max D	Skew	Kurt
2015	3A	1 (23/06)	74	-0,40%	0,069	0,125	0,094	-0,45%	0,061	0,407	-0,107	-0,23%	0,068	0,073	0,416	-0,36%	0,084	0,255	2,225	-0,27%	0,088	-0,192	0,106	-0,13%	0,101	0,685	2,288
		2 (03/07)	34	-0,31%	0,071	0,166	-0,526	-0,11%	0,096	0,309	-0,603	-0,12%	0,108	-0,589	1,082	0,12%	0,119	-0,37	0,358	-0,27%	0,114	-0,034	-0,509	-0,05%	0,113	0,132	0,413
	3C	1 (25/06)	62	-0,41%	0,09	-0,565	0,17	0,41%	0,064	-0,002	-0,665	-0,33%	0,055	0,07	0,245	-0,32%	0,076	-0,239	-0,557	-0,29%	0,086	0,015	-0,308	-0,12%	0,116	-0,762	0,58
		2 (30/06)	34	-0,03%	0,101	0,097	0,6	0,03%	0,116	-0,173	0,672	0,11%	0,089	0,55	1,067	0,05%	0,087	-0,428	-0,32	-0,31%	0,138	-0,359	0,776	0,28%	0,086	0,4	-0,325

Homogénéité des variance: Test de Levene sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

Station	Nb Prélèvem	N	Aire F	Périmètre F	Longueur F	Largeur F	Grand F	Petit F
Site A	2	108	0,607	6,734	1,304	0,091	1,304	0,248
Site B	2	96	0,588	0,369	4,346	0,09	0,052	1,493

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA2 |D-G|/((D+G)/2)

3A	ddl	Aire SS	MS	F	p	Périmètre SS	MS	F	p	Longueur SS	MS	F	p	Largeur SS	MS	F	p	Grand SS	MS	F	p	Petit SS	MS	F	p
intercept	1	1,69%	1,69%	163,049	< 2,2E-16	4,61%	4,61%	206,439	< 2,2E-16	1,96%	1,96%	149,87	< 2,2E-16	2,17%	2,17%	135,023	< 2,2E-16	0,92%	0,92%	124,854	< 2,2E-16	1,03%	1,03%	133,674	< 2,2E-16
Jour	1	0,01%	0,01%	0,671	0,415	0,14%	0,14%	6,257	0,014•	0,02%	0,02%	1,274	0,262	0,00%	0,00%	0,071	0,791	0,01%	0,01%	1,392	0,241	0,00%	0,00%	0,196	0,659
Erreur	106	1,10%	0,01%			2,37%	0,02%			1,38%	0,01%			1,70%	0,02%			0,78%	0,01%			0,81%	0,01%		
Total	107	1,11%				2,51%				1,40%				1,70%				0,79%				0,81%			

3C	ddl	Aire SS	MS	F	p	Périmètre SS	MS	F	p	Longueur SS	MS	F	p	Largeur SS	MS	F	p	Grand SS	MS	F	p	Petit SS	MS	F	p
intercept	1	1,62%	1,62%	118,856	< 2,2E-16	3,81%	3,81%	147,069	< 2,2E-16	2,02%	2,02%	146,343	< 2,2E-16	1,41%	1,41%	162,304	< 2,2E-16	1,31%	1,31%	146,92	< 2,2E-16	1,08%	1,08%	150,851	< 2,2E-16
Jour	1	0,01%	0,01%	0,668	0,416	0,01%	0,01%	0,511	0,476	0,05%	0,05%	3,641	0,059	0,00%	0,00%	0,088	0,767	0,00%	0,00%	0,053	0,818	0,01%	0,01%	1,929	0,168
Erreur	94	1,28%	0,01%			2,44%	0,03%			1,30%	0,01%			0,82%	0,01%			0,84%	0,01%			0,67%	0,01%		
Total	95	1,29%				2,45%				1,35%				0,82%				0,84%				0,68%			

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

		Longeur Standard (mm)		Poids (mg)	
	N	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2013	291	10,730	24,81	0,109	1,423
2014	601	10,910	27,35	0,081	0,950
2015	456	10,270	19,18	0,068	0,541
Zone 1	531	10,160	19,96	0,074	0,879
Zone 2	372	10,930	27,28	0,091	1,170
Zone 3	445	11,010	26,22	0,088	0,883
Type A	465	10,780	23,37	0,069	0,804
Type B	487	10,700	25,38	0,101	1,167
Type C	396	10,440	23,19	0,079	0,853

Comparaison des moyennes : Kruskal Wallis

		N	χ^2	ddl	p
Année	Longeur Sta	1348	26,038	2	1,22E-06
	Poids	1348	33,192	2	6,20E-08
Zone	Longeur Sta	1348	111,18	2	< 2,2E-16
	Poids	1348	130,95	2	< 2,2E-16
Type	Longeur Sta	1348	34,527	2	1,43E-07
	Poids	1348	19,93	2	4,70E-05

Post-hoc: Nemenyi

LS	Comparaison	Statistique	p	Pds	Comparaison	Statistique	p
Années	2013,2014	0,997	5,80E-01	Années	2013,2014	2,762	1,53E-02
	2013,2015	-3,294	1,97E-03		2013,2015	-1,650	2,22E-01
	2014,2015	-4,979	1,29E-06		2014,2015	-5,873	8,53E-09
Zones	1,2	8,450	< 2,2E-16	Zones	1,2	9,790	< 2,2E-16
	1,3	9,185	< 2,2E-16		1,3	9,241	< 2,2E-16
	2,3	0,833	6,93E-01		2,3	-0,842	6,92E-01
Types	(A,B)	-4,765	3,07E-06	Types	(A,B)	-4,465	1,70E-05
	(A,C)	-4,663	5,79E-06		(A,C)	-2,085	9,31E-02
	(B,C)	0,052	1,00E+00		(B,C)	1,849	1,55E-01

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

			Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
Année	N	ddl	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798Vs²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798Vs²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798Vs²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798Vs²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798Vs²
2013	288	287	4,191	3,70E-05	••	0,41%	1,32%	3,348	9,23E-04	••	0,61%	2,45%	-0,28	7,79E-01		-0,04%	1,71%	3,528	4,88E-04	••	0,37%	1,41%	0,65	5,16E-01		0,06%	1,17%
2014	603	602	6,081	2,12E-09	•••	0,40%	1,28%	2,992	2,89E-03	••	0,30%	1,94%	3,031	2,54E-03	••	0,22%	1,42%	3,187	1,51E-03	••	0,19%	1,19%	3,387	7,53E-04	••	0,18%	1,05%
2015	453	452	5,919	6,41E-09	•••	0,47%	1,35%	4,099	4,92E-05	••	0,48%	1,98%	2,072	3,89E-02	•	0,18%	1,46%	3,333	9,30E-04	••	0,25%	1,28%	2,538	1,15E-02	•	0,18%	1,18%

			Petit			
Année	N	ddl	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798Vs²
2013	288	287	4,526	8,80E-06	•••	0,35%	1,05%
2014	603	602	4,168	3,52E-05	••	0,22%	1,01%
2015	453	452	4,786	2,31E-06	•••	0,29%	1,05%

Valeurs: Données pour FA2 |D-G|/((D+G)/2)

Données Brutes

	Aire		Périmètre		Longueur		Largeur		Grand		Petit	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2013	1,36%	0,06%	2,48%	0,11%	1,68%	0,08%	1,42%	0,07%	1,15%	0,05%	1,06%	0,05%
2014	1,30%	0,04%	1,95%	0,06%	1,42%	0,05%	1,18%	0,04%	1,05%	0,03%	1,01%	0,03%
2015	1,42%	0,05%	2,07%	0,07%	1,47%	0,05%	1,29%	0,05%	1,20%	0,04%	1,05%	0,04%

Données centrées

	Aire		Périmètre		Longueur		Largeur		Grand		Petit	
	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2013	1,32%	0,06%	2,43%	0,11%	1,67%	0,08%	1,40%	0,06%	1,15%	0,05%	1,02%	0,05%
2014	1,27%	0,04%	1,93%	0,06%	1,42%	0,04%	1,17%	0,04%	1,04%	0,03%	1,00%	0,03%
2015	1,38%	0,05%	2,03%	0,07%	1,47%	0,05%	1,28%	0,05%	1,19%	0,04%	1,03%	0,04%

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

		Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
	N	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
2013	288	0,41%	0,037	-0,135	0,053	0,61%	0,037	0,279	0,169	-0,04%	0,035	0,033	0,381	0,37%	0,029	0,024	-0,05	0,06%	0,032	0,185	0,152	0,35%	0,036	0,04	0,235
2014	603	0,40%	0,028	0,334	0,275	0,30%	0,017	-0,14	0,144	0,22%	0,032	0,19	0,151	0,19%	0,031	0,12	0,254	0,18%	0,02	0,07	0,394	0,22%	0,025	0,315	0,524
2015	453	0,47%	0,028	0,084	-0,245	0,48%	0,031	-0,094	-0,448	0,18%	0,02	-0,071	0,053	0,25%	0,025	-0,024	0,051	0,18%	0,022	-0,103	-0,108	0,29%	0,039	0,223	0,039

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA2 |D-G|/((D+G)/2)

		Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
2013/2014/2	ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	0,214	0,214	2229,473	0,000	0,557	0,557	2289,109	0,000	0,283	0,283	2184,671	0,000	0,202	0,202	2106,704	0,000	0,155	0,155	2137,577	0,000	0,127	0,127	1989,361	0,000
Année	2	0,000	0,000	1,612	0,200	0,005	0,003	10,463	0,000	0,001	0,001	5,132	0,006	0,001	0,001	5,621	0,004	0,001	0,000	4,171	0,016	0,000	0,000	0,232	0,793
Erreur	1341	0,129	0,000			0,326	0,000			0,174	0,000			0,128	0,000			0,097	0,000			0,086	0,000		
Total	1343	0,129				0,331				0,175				0,129				0,098				0,086			

Post-hoc: Sheffé

Périmètre	2013	2014
2014	3,86E-05	
2015	0,002	0,554

Longueur	2013	2014
2014	0,004	
2015	0,040	0,766

Largeur	2013	2014
2014	0,003	
2015	0,221	0,174

Grand	2013	2014
2014	0,173	
2015	0,829	0,015

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

	N	Longeur Standard (mm) Moyenne	SE	Poids (mg) Moyenne	SE
Zone 1	91	9,69	0,10	13,59	0,43
Zone 2	98	11,69	0,23	37,55	3,31
Zone 3	102	10,74	0,15	22,58	1,90
Type A	92	10,85	0,17	23,83	2,39
Type B	104	10,71	0,23	26,00	2,84
Type C	95	10,64	0,15	24,46	2,03

Comparaison des moyennes : Kruskal Wallis

		N	ddl	χ^2	p-value
Zone	Longeur Sta	291	2	60,606	6,91E-14
	Poids	291	2	71,143	3,56E-16
Type	Longeur Sta	291	2	5,909	5,21E-02
	Poids	291	2	11,417	3,32E-03

Post-hoc: Nemenyi

LS	Comparaison	Statistique	p	Pds	Comparaison	Statistique	p
zones	p(1,2)	7,213	8,742E-13	zones	p(1,2)	7,512	6,417E-14
	p(1,3)	5,301	2,092E-07		p(1,3)	4,829	2,803E-06
	p(2,3)	-3,087	4,687E-03		p(2,3)	-4,361	2,559E-05
				Types	p(A,B)	-2,837	1,226E-02
					p(A,C)	-0,242	9,826E-01
					p(B,C)	2,671	1,988E-02

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

		N	ddl	Aire t-value	p-value	FDR	Périmètre Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Longueur Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Largeur Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Grand Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Petit Moyenne	0,798√s²
Zone 1		90	89	2,714	7,99E-03	•	0,49%	1,37%	2,023	4,60E-02		0,62%	2,33%	0,223	8,24E-01		0,05%	1,80%	2,366	2,01E-02		0,46%	1,48%	0,463	6,45E-01		0,08%	1,31%
Zone 2		99	98	1,756	8,23E-02		0,29%	1,32%	1,479	1,42E-01		0,44%	2,38%	-0,96	3,39E-01		-0,22%	1,83%	1,448	1,51E-01		0,26%	1,42%	-0,852	3,96E-01		-0,12%	1,12%
Zone 3		99	98	2,792	6,31E-03	•	0,45%	1,28%	2,265	2,57E-02		0,76%	2,65%	0,38	7,05E-01		0,07%	1,48%	2,304	2,34E-02		0,39%	1,33%	1,533	1,29E-01		0,21%	1,09%
Type A		90	89	2,326	2,23E-02		0,43%	1,39%	2,661	9,24E-03	•	0,80%	2,26%	-0,77	4,43E-01		-0,20%	1,95%	2,775	6,73E-03	•	0,51%	1,39%	-0,063	9,50E-01		-0,01%	1,22%
Type B		104	103	1,735	8,58E-02		0,29%	1,34%	1,707	9,08E-02		0,58%	2,78%	0,453	6,51E-01		0,09%	1,54%	0,802	4,24E-01		0,14%	1,45%	0,616	5,39E-01		0,08%	1,07%
Type C		94	93	3,315	1,31E-03	•	0,52%	1,22%	1,55	1,25E-01		0,45%	2,25%	-0,062	9,51E-01		-0,01%	1,65%	2,699	8,26E-03	•	0,48%	1,37%	0,573	5,68E-01		0,09%	1,25%

				Aire			Périmètre		Longueur			Largeur			Grand			Petit		
Zone	Type	N	ddl	t-value	p-value	FDR	t-value	p-value	FDR	t-value	p-value	FDR	t-value	p-value	FDR	t-value	p-value	FDR	t-value	p-value	FDR
1	**A**	26	25	1,418	1,69E-01		0,391	6,99E-01		-0,847	4,05E-01		3,263	3,18E-03	•	-0,103	9,19E-01		2,707	1,21E-02	
1	**B**	28	27	0,785	4,40E-01		1,53	1,38E-01		1,205	2,39E-01		1,253	2,21E-01		-0,143	8,88E-01		0,928	3,62E-01	
1	**C**	36	35	2,516	1,66E-02		1,507	1,41E-01		0,33	7,43E-01		0,176	8,61E-01		0,963	3,42E-01		1,486	1,46E-01	
2	**A**	27	26	1,457	1,57E-01		1,987	5,76E-02		-0,475	6,38E-01		1,349	1,89E-01		-0,095	9,25E-01		1,76	9,03E-02	
2	**B**	43	42	0,662	5,12E-01		0,278	7,82E-01		-0,739	4,64E-01		-0,046	9,64E-01		-0,368	7,15E-01		1,171	2,48E-01	
2	**C**	29	28	1,128	2,69E-01		0,548	5,88E-01		-0,479	6,36E-01		1,724	9,57E-02		-1,001	3,26E-01		2,526	1,75E-02	
3	**A**	37	36	1,174	2,48E-01		2,183	3,56E-02		0,169	8,66E-01		0,608	5,47E-01		0,111	9,12E-01		1,475	1,49E-01	
3	**B**	33	32	1,779	8,47E-02		1,227	2,29E-01		0,367	7,16E-01		0,43	6,70E-01		1,642	1,10E-01		0,34	7,36E-01	
3	**C**	29	28	1,989	5,66E-02		0,568	5,75E-01		0,098	9,23E-01		4,147	2,83E-04	••	0,885	3,84E-01		1,743	9,22E-02	

Valeurs: Données pour FA2 |D-G|/((D+G)/2)

Données Brutes

Année	Zone	Aire Moyenne	SE	Périmètre Moyenne	SE	Longueur Moyenne	SE	Largeur Moyenne	SE	Grand Moyenne	SE	Petit Moyenne	SE
2013	**1**	1,40%	0,12%	2,47%	0,17%	1,73%	0,15%	1,50%	0,12%	1,22%	0,12%	1,15%	0,11%
	2	1,31%	0,11%	2,34%	0,19%	1,86%	0,14%	1,46%	0,11%	1,11%	0,09%	1,13%	0,09%
	3	1,37%	0,10%	2,64%	0,22%	1,44%	0,12%	1,32%	0,11%	1,12%	0,08%	0,91%	0,07%
2013	**A**	1,43%	0,11%	2,33%	0,19%	1,92%	0,16%	1,40%	0,12%	1,18%	0,10%	0,99%	0,09%
	B	1,35%	0,10%	2,75%	0,22%	1,54%	0,11%	1,41%	0,11%	1,04%	0,08%	1,08%	0,09%
	C	1,30%	0,10%	2,32%	0,17%	1,60%	0,13%	1,46%	0,10%	1,24%	0,10%	1,09%	0,08%

Données centrées

Année	Zone	Aire Moyenne	SE	Périmètre Moyenne	SE	Longueur Moyenne	SE	Largeur Moyenne	SE	Grand Moyenne	SE	Petit Moyenne	SE
2013	**1**	1,37%	0,11%	2,42%	0,17%			1,47%	0,12%			1,14%	0,10%
	2	1,29%	0,10%	2,31%	0,19%			1,45%	0,10%			1,08%	0,08%
	3	1,32%	0,09%	2,56%	0,21%			1,29%	0,11%			0,87%	0,07%
2013	**A**	1,38%	0,11%	2,20%	0,19%			1,33%	0,12%			0,94%	0,09%
	B	1,33%	0,10%	2,72%	0,21%			1,41%	0,11%			1,08%	0,09%
	C	1,26%	0,09%	2,33%	0,16%			1,42%	0,10%			1,03%	0,08%

Valeurs brutes

Année	Zone	Type	Aire Moyenne	SE	Périmètre Moyenne	SE	Longueur Moyenne	SE	Largeur Moyenne	SE	Grand Moyenne	SE	Petit Moyenne	SE
2013	**1**	**A**	1,48%	0,26%	2,55%	0,30%	2,18%	0,35%	1,57%	0,25%	1,35%	0,25%	0,83%	0,18%
		B	1,43%	0,19%	2,65%	0,32%	1,62%	0,25%	1,28%	0,21%	1,12%	0,18%	1,39%	0,20%
		C	1,25%	0,16%	2,30%	0,27%	1,56%	0,19%	1,60%	0,19%	1,24%	0,17%	1,21%	0,16%
	2	**A**	1,31%	0,17%	2,19%	0,40%	2,47%	0,31%	1,22%	0,18%	1,26%	0,17%	1,12%	0,17%
		B	1,33%	0,18%	2,42%	0,28%	1,47%	0,15%	1,59%	0,17%	0,96%	0,12%	1,17%	0,13%
		C	1,15%	0,17%	2,43%	0,31%	1,95%	0,25%	1,42%	0,18%	1,26%	0,15%	1,14%	0,15%
	3	**A**	1,42%	0,17%	2,31%	0,27%	1,32%	0,15%	1,41%	0,19%	0,99%	0,12%	1,01%	0,14%
		B	1,19%	0,14%	3,29%	0,48%	1,59%	0,21%	1,26%	0,20%	1,10%	0,14%	0,72%	0,10%
		C	1,37%	0,18%	2,31%	0,29%	1,34%	0,25%	1,28%	0,15%	1,23%	0,17%	0,92%	0,11%

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

		N	Aire Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Périmètre Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Longueur Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Largeur Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Grand Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Petit Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
2013	**1**	90	0,49%	0,063	-0,076	0,062	0,62%	0,07	0,284	-0,588	0,05%	0,073	-0,181	0,422	0,46%	0,061	0,016	-0,205	0,08%	0,106	0,097	0,308	0,41%	0,072	-0,039	0,129
	2	99	0,29%	0,063	-0,207	0,307	0,44%	0,053	0,333	0,263	-0,22%	0,063	0,343	0,138	0,26%	0,047	0,037	-0,283	-0,12%	0,054	0,272	-0,088	0,41%	0,039	0,061	-0,22
	3	99	0,45%	0,078	-0,301	-0,183	0,76%	0,051	0,264	0,513	0,07%	0,06	-0,105	0,927	0,39%	0,067	0,011	0,543	0,21%	0,049	0,236	0,027	0,24%	0,051	-0,013	0,994
A		90	0,43%	0,069	-0,159	0,293	0,80%	0,062	0,18	-0,14	-0,20%	0,056	-0,139	0,099	0,51%	0,061	0,04	0,328	-0,01%	0,053	0,241	0,366	0,44%	0,081	-0,01	1,038
B		104	0,29%	0,039	-0,173	0,094	0,58%	0,066	0,32	0,276	0,09%	0,052	0,117	0,141	0,14%	0,071	0,111	0,148	0,08%	0,054	-0,022	0,294	0,21%	0,061	0,096	0,102
C		94	0,52%	0,061	-0,008	-0,407	0,45%	0,071	0,298	-0,181	-0,01%	0,057	0,347	0,678	0,48%	0,049	-0,053	-0,532	0,09%	0,061	0,29	-0,12	0,43%	0,063	0,077	-0,117

			N	Aire Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Périmètre Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Longueur Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Largeur Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Grand Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Petit Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
2013	**1**	**A**	26	0,54%	0,148	0,596	0,5	0,23%	0,108	-0,125	-0,97	-0,47%	0,125	-0,331	-0,371	1,09%	0,093	0,278	-0,786	-0,04%	0,166	0,503	0,727	0,58%	0,182	0,867	1,114
		B	28	0,27%	0,083	0,454	-0,447	0,89%	0,075	0,163	-0,649	0,47%	0,115	0,208	0,732	0,40%	0,093	-0,409	1,223	-0,04%	0,122	-0,67	0,59	0,31%	0,114	-0,242	-0,314
		C	36	0,63%	0,099	0,09	-0,433	0,70%	0,102	0,569	-0,247	0,11%	0,084	0,376	0,283	0,06%	0,062	0,272	-0,488	0,26%	0,133	0,132	-0,192	0,37%	0,069	0,14	-0,109
	2	**A**	27	0,44%	0,188	-0,798	0,218	1,09%	0,14	0,599	0,895	-0,27%	0,112	0,055	-0,685	0,40%	0,128	-0,427	0,599	-0,03%	0,121	0,035	-0,511	0,47%	0,107	-0,041	0,354
		B	43	0,19%	0,097	0,072	0,55	0,13%	0,083	0,455	0,222	-0,20%	0,058	0,165	-0,466	-0,01%	0,073	0,232	-0,208	-0,07%	0,118	0,403	0,876	0,26%	0,057	0,196	-0,249
		C	29	0,32%	0,097	-0,238	0,156	0,30%	0,109	0,06	0,306	-0,21%	0,152	1,01	0,76	0,54%	0,173	0,233	-1,092 •	-0,28%	0,106	0,458	-0,175	0,59%	0,072	0,045	-0,328
	3	**A**	37	0,34%	0,104	-0,556	0,087	0,98%	0,094	0,223	-0,313	0,05%	0,1	0,666	0,938	0,19%	0,109	0,162	0,803	0,02%	0,081	-0,013	-0,413	0,32%	0,099	-0,255	1,639 •
		B	33	0,44%	0,087	-0,191	-0,548	0,91%	0,089	0,191	0,196	0,13%	0,094	-0,144	0,27	0,13%	0,147	0,434	0,839	0,38%	0,092	0,236	-0,618	0,06%	0,09	0,414	0,847
		C	29	0,60%	0,103	0,05	-0,742	0,30%	0,092	0,319	-0,489	0,04%	0,148	-0,683	2,154 ••	0,93%	0,081	-0,45	-0,234	0,26%	0,122	0,351	0,586	0,35%	0,121	-0,057	-0,573

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA2 |D-G|/((D+G)/2)

		Aire corrigé pour l'AD				Périmètre corrigé pour l'AD				Longueur				Largeur corrigé pour l'AD				Grand				Petit corrigé pour l'AD			
2013	**ddl**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**
Intercept	1	5,04%	5,04%	519,598	< 2,2E-16	17,00%	17,00%	482,373	< 2,2E-16	8,08%	8,08%	464,631	< 2,2E-16	5,64%	5,64%	496,777	< 2,2E-16	3,79%	3,79%	448,754	< 2,2E-16	3,03%	3,03%	453,906	< 2,2E-16
Zone	2	0,00%	0,00%	0,134	8,75E-01	0,03%	0,02%	0,426	6,54E-01	0,09%	0,05%	2,635	7,35E-02	0,02%	0,01%	0,864	4,23E-01	0,01%	0,00%	0,439	6,45E-01	0,04%	0,02%	2,843	5,99E-02
Erreur	285	2,77%	0,01%			10,04%	0,04%			4,96%	0,02%			3,23%	0,01%			2,41%	0,01%			1,90%	0,01%		
Total	287	2,77%				10,07%				5,05%				3,25%				2,42%				1,94%			
Intercept	1	5,05%	5,05%	523,624	< 2,2E-16	16,98%	16,98%	487,234	< 2,2E-16	8,08%	8,08%	463,348	< 2,2E-16	5,55%	5,55%	485,097	< 2,2E-16	3,79%	3,79%	451,414	< 2,2E-16	3,00%	3,00%	437,484	< 2,2E-16
Type	2	0,01%	0,00%	0,333	7,17E-01	0,15%	0,07%	2,083	1,26E-01	0,08%	0,04%	2,234	1,09E-01	0,01%	0,00%	0,216	8,06E-01	0,02%	0,01%	1,286	2,78E-01	0,01%	0,01%	0,656	5,20E-01
Erreur	285	2,75%	0,01%			9,94%	0,04%			4,97%	0,02%			3,26%	0,01%			2,40%	0,01%			1,95%	0,01%		
Total	287	2,75%				10,08%				5,05%				3,26%				2,42%				1,96%			

		Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
2013	**ddl**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SS**	**MS**	**F**	**p**
Intercept	1	5,30%	5,30%	496,098	< 2,2E-16	17,71%	17,71%	486,002	< 2,2E-16	8,08%	8,08%	4,80E+02	< 2,2E-16	5,83%	5,83%	477,887	< 2,2E-16	3,79%	3,79%	447,108	< 2,2E-16	3,22%	3,22%	442,723	< 2,2E-16
Stations	8	0,03%	0,00%	0,329	9,54E-01	0,30%	0,04%	1,038	4,08E-01	0,35%	0,04%	2,62E+00	8,83E-03	0,06%	0,01%	0,651	7,35E-01	0,05%	0,01%	0,729	6,66E-01	0,09%	0,01%	1,58	1,30E-01
Erreur	279	2,98%	0,01%			10,17%	0,04%			4,69%	0,02%			3,40%	0,01%			2,37%	0,01%			2,03%	0,01%		
Total	287	3,01%				10,47%				5,05%				3,47%				2,42%				2,12%			

Post-hoc: Tukey HSD

Longueur	1A	1B	1C	2A	2B	2C	3A	3B	3C
1A									
1B	0,755								
1C	0,583	1,000							
2A	0,997	0,228	0,110						
2B	0,356	1,000	1,000	0,039					
2C	0,998	0,986	0,952	0,835	0,838				
3A	0,219	0,998	0,999	0,019	1,000	0,671			
3B	0,781	1,000	1,000	0,234	1,000	0,992	0,993		
3C	0,335	1,000	1,000	0,044	1,000	0,788	1,000	0,998	

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus
Valeurs:

		Longeur Standard (mm)		Poids (mg)	
	N	Moyenne	SE	Moyenne	SE
Zone 1	252	10,46	0,13	24,39	1,70
Zone 2	162	11,10	0,13	27,93	1,51
Zone 3	187	11,34	0,14	30,82	1,50
Type A	216	10,98	0,10	24,73	1,21
Type B	213	10,92	0,17	29,65	2,07
Type C	172	10,79	0,14	27,78	1,45

Comparaison des moyennes : Kruskal Wallis

		N	ddl	χ²	p-value
Zone	Longeur Sta	599	2	42,011	7,541E-10
	Poids	599	2	55,796	7,655E-13
Type	Longeur Sta	599	2	11,747	2,812E-03
	Poids	599	2	3,269	1,951E-01

Post-hoc: Nemenyi

LS	Comparaison	Statistique	p	Pds	Comparaison	Statistique	p
Zones	p(1,2)	5,238	3,257E-07	Zones	p(1,2)	6,253	8,127E-10
	p(1,3)	5,554	5,542E-08		p(1,3)	6,229	8,452E-10
	p(2,3)	0,701	7,752E-01		p(2,3)	0,335	9,582E-01
Types	p(A,B)	-3,325	1,903E-03				
	p(A,C)	-1,930	1,304E-01				
	p(B,C)	0,774	7,307E-01				

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

			Aire				Périmètre				Hauteur				Largeur				Grand				Petit			
	N	ddl	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²
Zone 1	255	254	4,144	4,66E-05	••	0,42%	1,29%	0,685	4,94E-01		0,10%	1,82%	1,651	1,00E-01		0,19%	1,44%	2,649	8,59E-03	•	0,24%	1,18%	1,738	8,34E-02		0,14%	1,02%
Zone 2	161	160	3,966	1,10E-04	••	0,38%	1,27%	2,438	1,59E-02	•	0,44%	2,02%	2,686	7,99E-03	•	0,24%	1,41%	0,723	4,70E-01		0,16%	1,21%	3,61	4,10E-04	••	0,21%	1,06%
Zone 3	187	186	2,54	1,19E-02	•	0,32%	1,37%	2,189	2,99E-02		0,42%	2,09%	1,029	3,05E-01		0,13%	1,41%	1,939	5,40E-02		0,22%	1,24%	0,839	4,02E-01		0,09%	1,11%
Type A	215	214	3,324	1,05E-03	••	0,35%	1,35%	2,169	3,12E-02		0,35%	1,95%	1,167	2,44E-01		0,13%	1,34%	2,185	3,00E-02		0,25%	1,26%	1,731	8,49E-02		0,14%	1,09%
Type B	216	215	4,026	7,86E-05	••	0,40%	1,21%	0,573	5,67E-01		0,12%	2,09%	1,636	1,03E-01		0,17%	1,52%	1,744	8,25E-02		0,18%	1,17%	2,047	4,19E-02		0,16%	1,09%
Type C	172	171	3,197	1,66E-03	••	0,38%	1,33%	2,698	7,69E-03	•	0,55%	1,86%	2,588	1,05E-02	•	0,33%	1,38%	1,54	1,25E-01		0,17%	1,17%	2,147	3,32E-02		0,19%	1,00%

				Aire				Périmètre				Hauteur				Largeur				Grand				Petit			
Zone	Type	N	ddl	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²
1	**A**	72	71	1,531	1,30E-01		0,31%	1,35%	0,527	6,00E-01		0,539	5,92E-01				1,137	2,59E-01				0,471	6,39E-01				1,62	1,10E-01
1	**B**	90	89	2,731	7,60E-03	•	0,44%	1,21%	-0,267	7,90E-01		0,622	5,35E-01				1,683	9,60E-02				0,875	3,84E-01				2,31	2,32E-02
1	**C**	93	92	2,852	5,37E-03	•	0,49%	1,32%	1,007	3,17E-01		1,805	7,44E-02				1,707	9,13E-02				1,714	9,00E-02				1,998	4,86E-02
2	**A**	63	62	3,048	3,38E-03	•	0,60%	1,24%	1,959	5,47E-02		0,928	3,57E-01				1,002	3,20E-01				2,164	3,43E-02				1,389	1,70E-01
2	**B**	66	65	2,37	2,08E-02	•	0,41%	1,13%	0,823	4,14E-01		2,135	3,65E-02				0,159	8,74E-01				2,565	1,27E-02				0,108	9,15E-01
2	**C**	32	31	1,089	2,85E-01		0,25%	1,05%	1,663	1,06E-01		1,577	1,25E-01				-0,196	8,46E-01				1,322	1,96E-01				-0,063	9,50E-01
3	**A**	80	79	1,411	1,62E-01		0,28%	1,40%	1,215	2,28E-01		0,594	5,54E-01				1,593	1,15E-01				0,514	6,09E-01				1,459	1,49E-01
3	**B**	60	59	1,805	7,61E-02		0,37%	1,27%	0,501	6,18E-01		0,117	9,08E-01				0,979	3,30E-01				0,263	7,93E-01				1,756	8,43E-02
3	**C**	47	46	1,21	2,33E-01		0,32%	1,44%	2,306	2,57E-02		1,126	2,66E-01				0,641	5,25E-01				0,698	4,89E-01				1,076	2,88E-01

Données Brutes

			Aire		Périmètre		Hauteur		Largeur		Grand		Petit	
Année	Zone		Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2014	**1**		1,31%	0,07%	1,80%	0,09%	1,44%	0,07%	1,17%	0,06%	1,01%	0,05%	1,05%	0,05%
	2		1,21%	0,07%	1,97%	0,12%	1,42%	0,09%	1,17%	0,07%	1,05%	0,06%	0,97%	0,06%
	3		1,37%	0,08%	2,12%	0,12%	1,39%	0,08%	1,20%	0,08%	1,10%	0,06%	0,99%	0,06%
2014	**A**		1,39%	0,07%	1,92%	0,10%	1,41%	0,07%	1,22%	0,07%	1,10%	0,06%	0,99%	0,05%
	B		1,21%	0,07%	2,01%	0,11%	1,46%	0,08%	1,15%	0,06%	1,05%	0,06%	1,00%	0,06%
	C		1,32%	0,08%	1,90%	0,10%	1,37%	0,08%	1,15%	0,07%	0,99%	0,06%	1,05%	0,06%

Données centrées

			Aire		Périmètre		Hauteur		Largeur		Grand		Petit	
Année	Zone		Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2014	**1**		1,28%	0,06%	1,80%	0,09%	1,44%	0,07%	1,15%	0,06%	1,01%	0,05%	1,04%	0,05%
	2		1,15%	0,07%	1,92%	0,12%	1,43%	0,08%	1,17%	0,07%	1,03%	0,06%	0,97%	0,06%
	3		1,35%	0,08%	2,09%	0,12%	1,38%	0,08%	1,20%	0,07%	1,10%	0,06%	0,97%	0,06%
2014	**A**		1,35%	0,07%	1,91%	0,10%	1,42%	0,07%	1,21%	0,07%	1,09%	0,06%	0,99%	0,05%
	B		1,18%	0,06%	2,01%	0,11%	1,46%	0,08%	1,14%	0,06%	1,04%	0,06%	0,98%	0,05%
	C		1,28%	0,08%	1,84%	0,10%	1,35%	0,08%	1,15%	0,07%	0,97%	0,06%	1,04%	0,06%

Valeurs brutes

			Aire		Périmètre		Hauteur		Largeur		Grand		Petit	
Année	Zone	Type	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2014	**1**	**A**	1,38%	0,12%	1,66%	0,17%	1,62%	0,13%	1,11%	0,11%	1,10%	0,10%	0,99%	0,08%
		B	1,19%	0,11%	1,87%	0,17%	1,47%	0,13%	1,21%	0,10%	1,02%	0,10%	1,05%	0,08%
		C	1,34%	0,11%	1,86%	0,13%	1,38%	0,10%	1,15%	0,10%	0,96%	0,07%	1,10%	0,09%
	2	**A**	1,32%	0,12%	2,12%	0,20%	1,38%	0,13%	1,35%	0,12%	1,11%	0,10%	1,09%	0,10%
		B	1,14%	0,11%	2,06%	0,18%	1,50%	0,15%	1,06%	0,10%	1,05%	0,10%	0,81%	0,09%
		C	1,05%	0,13%	1,63%	0,23%	1,48%	0,17%	1,03%	0,14%	0,99%	0,11%	1,12%	0,13%
	3	**A**	1,41%	0,12%	2,03%	0,17%	1,27%	0,10%	1,22%	0,12%	1,09%	0,09%	0,91%	0,09%
		B	1,25%	0,13%	2,20%	0,22%	1,44%	0,16%	1,15%	0,12%	1,10%	0,11%	1,14%	0,11%
		C	1,38%	0,17%	2,21%	0,21%	1,47%	0,18%	1,23%	0,13%	1,09%	0,12%	0,90%	0,10%

Valeurs corrigées pour l'AD

			Aire	
Année	Zone	Type	Moyenne	SE
2014	**1**	**A**	1,39%	0,11%
		B	1,17%	0,10%
		C	1,29%	0,11%
	2	**A**	1,20%	0,12%
		B	1,11%	0,11%
		C	1,07%	0,13%
	3	**A**	1,40%	0,12%
		B	1,27%	0,12%
		C	1,37%	0,17%

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

			Aire				Périmètre				Hauteur				Largeur				Grand				Petit			
		N	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
2014	**1**	255	0,42%	0,046	0,489	0,407	0,10%	0,036	-0,347	0,42	0,19%	0,049	0,208	0,36	0,24%	0,052	0,137	0,337	0,14%	0,059	0,203	1,026 •	0,28%	0,035	0,356	0,463
	2	161	0,45%	0,038	0,138	0,428	0,47%	0,038	0,009	-0,092	0,37%	0,059	0,362	-0,183	0,08%	0,034	-0,108	-0,181	0,36%	0,055	0,041	-0,158	0,10%	0,044	0,129	0,067
	3	187	0,32%	0,038	0,288	0,015	0,42%	0,032	-0,111	-0,043	0,13%	0,033	0,026	0,116	0,22%	0,062	0,255	0,433	0,09%	0,038	-0,012	0,109	0,23%	0,046	0,403	0,994 •
A		215	0,38%	0,042	0,213	-0,230 •	0,36%	0,039	-0,04	0,141 •	0,14%	0,071	0,271	-0,338 •	0,23%	0,041	0,106	0,334 •	0,16%	0,034	0,007	-0,006 •	0,22%	0,045	0,279	0,508 •
B		216	0,41%	0,044	0,374	0,489 •	0,10%	0,05	-0,089	0,172 •	0,21%	0,051	0,225	0,707 •	0,17%	0,038	0,023	0,215 •	0,19%	0,046	0,106	0,927 •	0,22%	0,055	0,372	0,436 •
C		172	0,40%	0,04	0,467	0,773 •	0,47%	0,053	-0,312	0,09	0,33%	0,034	0,035	-0,287	0,17%	0,042	0,251	0,198	0,20%	0,049	0,131	0,123	0,20%	0,049	0,296	0,716 •

			Aire				Périmètre				Hauteur				Largeur				Grand				Petit			
		N	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
2014	**1**	**A**	72	0,31%	0,109	0,511	-0,384	0,14%	0,073	-0,265	0,811	0,13%	0,106	0,383	-0,394	0,19%	0,085	0,273	0,703	0,08%	0,096	0,725	0,641	0,23%	0,075	0,231	0,029
		B	90	0,44%	0,069	0,358	0,526	-0,07%	0,088	-0,495	0,835	0,13%	0,057	0,143	1,324 •	0,27%	0,054	-0,146	0,148	0,13%	0,081	-0,144	2,102 ••	0,31%	0,078	0,468	0,255
		C	93	0,49%	0,057	0,6	1,091 •	0,23%	0,083	-0,172	-0,538	0,29%	0,059	0,162	-0,421	0,26%	0,05	0,346	0,475	0,20%	0,06	0,153	-0,32	0,29%	0,078	0,329	0,834
	2	**A**	63	0,60%	0,069	-0,407	-0,016	0,63%	0,045	0,068	-0,109	0,20%	0,087	0,15	-0,437	0,21%	0,082	-0,216	-0,423	0,36%	0,066	-0,161	-0,289	0,24%	0,065	0,018	-0,431
		B	66	0,41%	0,069	0,73	1,815 ••	0,26%	0,063	-0,048	-0,247	0,50%	0,095	0,546	-0,01	0,03%	0,062	0,001	-0,107	0,40%	0,093	0,428	-0,142	0,01%	0,095	0,306	1,244•
		C	32	0,25%	0,091	0,147	-0,625	0,58%	0,091	0,1	0,258	0,47%	0,089	0,163	-0,576	-0,05%	0,079	-0,266	0,483	0,27%	0,101	-0,521	0,157	-0,02%	0,091	0,032	-0,071
	3	**A**	80	0,28%	0,075	0,372	0,097	0,34%	0,055	-0,072	-0,055	0,10%	0,08	0,186	-0,399	0,29%	0,101	0,252	0,78	0,08%	0,073	-0,489	-0,143	0,20%	0,073	0,598	2,173 ••
		B	60	0,37%	0,064	0,137	-0,35	0,18%	0,073	0,255	-0,193	0,03%	0,067	0,039	0,593	0,19%	0,081	0,236	0,725	0,05%	0,066	0,284	0,289	0,32%	0,074	0,164	0,131
		C	47	0,32%	0,077	0,318	0,335	0,85%	0,131	-0,753	1,158	0,32%	0,084	-0,166	-0,131	0,14%	0,09	0,267	-0,421	0,14%	0,068	0,384	0,545	0,18%	0,09	0,45	0,945

Comparaisons des groupes: ANOVA • 1 facteur sur FA2 |D-G|/((D+G)/2)

		Aire corrigé pour l'AD				Périmètre corrigé pour l'AD				Hauteur corrigé pour l'AD				Largeur corrigé pour l'AD				Grand corrigé pour l'AD				Petit corrigé pour l'AD			
2014 ddl		SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept	1	9,68%	9,68%	1023,892	< 2,2E-16	22,29%	22,29%	1018,593	< 2,2E-16	12,13%	12,13%	1,06E+03	< 2,2E-16	8,22%	8,22%	943,878	< 2,2E-16	6,54%	6,54%	1052,243	< 2,2E-16	6,00%	6,00%	988,452	< 2,2E-16
Zone	2	0,04%	0,02%	1,92	1,48E-01	0,09%	0,05%	2,096	1,24E-01	0,01%	0,00%	1,95E-01	8,23E-01	0,00%	0,00%	0,17	8,44E-01	0,01%	0,01%	0,725	4,85E-01	0,01%	0,00%	0,546	5,80E-01
Erreur	600	5,67%	0,01%			13,13%	0,02%			6,85%	0,01%			5,23%	0,01%			3,73%	0,01%			3,64%	0,01%		
Total	602	5,71%				13,22%				6,86%				5,23%				3,74%				3,65%			
													< 2,2E-16												
Intercept	1	9,69%	9,69%	1021,575	< 2,2E-16	22,36%	22,36%	1011,384	< 2,2E-16	12,02%	12,02%	1,04E+03	6,14E-01	8,21%	8,21%	938,622	< 2,2E-16	6,52%	6,52%	1028,136	< 2,2E-16	6,01%	6,01%	987,887	< 2,2E-16
Type	2	0,03%	0,02%	1,645	1,94E-01	0,03%	0,02%	0,678	5,08E-01	0,01%	0,01%	4,88E-01	0,614	0,01%	0,00%	0,287	7,51E-01	0,01%	0,01%	1,102	3,33E-01	0,01%	0,00%	0,386	6,80E-01
Erreur	600	5,69%	0,01%			13,26%	0,02%			6,94%	0,01%			5,25%	0,01%			3,80%	0,01%			3,65%	0,01%		
Total	602	5,72%				13,29%				6,96%				5,25%				3,82%				3,66%			

	Aire				Périmètre				Hauteur				Largeur				Grand				Petit			
2014 ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept 1	10,21%	10,21%	997,69	< 2,2E-16	22,82%	22,82%	1027,595	< 2,2E-16	12,11%	12,11%	1005,9	< 2,2E-16	8,34%	8,34%	931,652	< 2,2E-16	6,65%	6,65%	1018,772	< 2,2E-16	6,15%	6,15%	976,02	< 2,2E-16
Stations 8	0,07%	0,01%	0,794	6,08E-01	0,21%	0,03%	1,192	3,02E-01	0,07%	0,01%	0,729	6,66E-01	0,04%	0,01%	0,603	7,75E-01	0,02%	0,00%	0,428	9,05E-01	0,07%	0,01%	1,348	2,17E-01
Erreur 594	6,08%	0,01%			13,19%	0,02%			7,15%	0,01%			5,32%	0,01%			3,88%	0,01%			3,74%	0,01%		
Total 602	6,14%				13,40%				7,22%				5,36%				3,90%				3,81%			

Valeurs corrigées pour Aire

2014 ddl		SS	MS	F	p
Intercept	1	9,62%	9,62%	1011,521	< 2,2E-16
Stations	8	0,07%	0,01%	0,946	4,78E-01
Erreur	594	5,65%	0,01%		
Total	602	5,72%			

Les niveaux de significativité pour le test de Kolmogorov-Smirnov et FDR sont les suivants : p> 0,05 : " " ; p< 0,05 : "•" ; p< 0,01 : "••" ; p< 0,0001 : "•••"

Morphologie des individus

Valeurs:

		Longeur Standard (mm)		Poids (mg)	
	N	Moyenne	SE	Moyenne	SE
Zone 1	188	9,98	0,09	17,10	0,81
Zone 2	112	10,03	0,07	17,37	0,55
Zone 3	156	10,78	0,15	23,05	1,12
Type A	157	10,46	0,11	21,24	0,97
Type B	170	10,41	0,14	19,60	1,04
Type C	129	9,83	0,09	16,14	0,56

Comparaison des moyennes : Kruskal Wallis

		N	ddl	χ²	p-value
Zone	Longeur Sta	454	2	41,421	1,013E-09
	Poids	454	2	34,644	3,001E-08
Type	Longeur Sta	454	2	21,985	1,683E-05
	Poids	454	2	22,590	1,244E-05

Post-hoc: Nemenyi

LS	Comparaison	Statistique	p	Pds	Comparaison	Statistique	p
Zones	p(1,2)	2,180	7,501E-02	Zones	p(1,2)	2,575	2,700E-02
	p(1,3)	5,798	1,241E-08		p(1,3)	5,590	3,803E-08
	p(2,3)	4,609	7,872E-06		p(2,3)	3,229	3,067E-03
Types	p(A,B)	-1,878	1,459E-01	Types	p(A,B)	-3,333	1,766E-03
	p(A,C)	-4,625	7,355E-06		p(A,C)	-4,458	2,065E-05
	p(B,C)	-2,965	8,796E-03		p(B,C)	-1,281	4,122E-01

Asymétrie des individus

Asymétrie directionelle: Test-t sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

		Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
	N	ddl	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR
Zone 1	188	187	4,339	2,34E-05 ••		0,51%	1,29%	4,639	6,58E-06 ••		0,83%	1,95%	1,42	1,57E-01		0,19%	1,43%	1,434	1,53E-01		0,16%	1,22%	2,34	2,04E-02 •	
Zone 2	111	110	3,258	1,49E-03 ••		0,54%	1,39%	1,296	1,98E-01		0,31%	2,00%	0,994	3,22E-01		0,18%	1,50%	1,613	1,10E-01		0,27%	1,42%	0,831	4,08E-01	
Zone 3	154	153	2,63	9,42E-03 •		0,37%	1,40%	0,882	3,79E-01		0,18%	1,98%	1,136	2,58E-01		0,17%	1,48%	2,746	6,77E-03 •		0,35%	1,26%	1,103	2,72E-01	
Type A	154	153	3,276	1,30E-03 ••		0,44%	1,32%	4,751	4,63E-06 ••		0,86%	1,78%	0,567	5,71E-01		0,08%	1,47%	1,482	1,41E-01		0,19%	1,24%	1,379	1,70E-01	
Type B	170	169	4,204	4,24E-05 ••		0,55%	1,36%	2,324	2,13E-02 •		0,47%	2,12%	1,229	2,21E-01		0,18%	1,51%	3,062	2,56E-03 •		0,39%	1,31%	1,17	2,44E-01	
Type C	129	128	2,671	8,55E-03 •		0,41%	1,38%	0,167	8,68E-01		0,04%	1,99%	1,895	6,04E-02		0,29%	1,39%	1,082	2,82E-01		0,16%	1,30%	1,894	6,05E-02	

			Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
Zone	Type	N	ddl	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	Moyenne	0,798√s²	t-value	p-value	FDR	t-value	p-value	FDR	t-value	p-value	FDR	t-value	p-value	FDR
	1 A	55	54	3,085	3,21E-03 •		0,65%	1,24%	5,177	3,42E-06 •••		1,55%	1,77%	0,642	5,24E-01		0,433	6,66E-01		2,287	2,61E-02		1,453	1,52E-01	
	1 B	66	65	2,469	1,62E-02 •		0,51%	1,34%	1,854	6,84E-02		0,61%	2,14%	0,674	5,03E-01		2,247	2,81E-02		0,929	3,56E-01		2,585	1,20E-02	
	1 C	67	66	2,033	4,60E-02		0,41%	1,30%	1,612	1,12E-01		0,45%	1,82%	1,11	2,71E-01		0,035	9,72E-01		1,121	2,66E-01		1,123	2,65E-01	
	2 A	56	55	2,734	8,41E-03 •		0,58%	1,26%	-0,356	7,23E-01		-0,09%	1,55%	1,197	2,37E-01		0,662	5,11E-01		1,46	1,50E-01		1,948	5,65E-02	
	2 B	55	54	1,944	5,71E-02		0,50%	1,52%	1,806	7,65E-02		0,72%	2,35%	0,278	7,82E-01		1,509	1,37E-01		-0,181	8,57E-01		2,718	8,81E-03	
	3 A	43	42	-0,072	9,43E-01		-0,02%	1,43%	3,528	1,03E-03 ••		1,21%	1,80%	-0,68	5,00E-01		1,483	1,46E-01		-1,13	2,65E-01		1,108	2,74E-01	
	3 B	49	48	3,024	4,00E-03 •		0,66%	1,23%	0,035	9,72E-01		0,01%	1,78%	1,288	2,04E-01		1,699	9,58E-02		1,481	1,45E-01		2,145	3,70E-02	
	3 C	62	61	1,745	8,61E-02		0,41%	1,47%	-1,221	2,27E-01		-0,41%	2,11%	1,619	1,11E-01		1,561	1,24E-01		1,573	1,21E-01		0,707	4,82E-01	

Valeurs: Données pour FA2 |D-G|/((D+G)/2)

Données Brutes

		Aire		Périmètre		Longueur		Largeur		Grand		Petit	
Année	Zone	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2015	**1**	1,36%	0,07%	2,12%	0,11%	1,48%	0,07%	1,21%	0,07%	1,18%	0,06%	1,04%	0,06%
	2	1,49%	0,10%	2,00%	0,15%	1,46%	0,11%	1,44%	0,10%	1,21%	0,09%	1,09%	0,08%
	3	1,44%	0,09%	2,05%	0,11%	1,45%	0,09%	1,28%	0,08%	1,21%	0,07%	1,04%	0,07%
2015	**A**	1,36%	0,08%	1,99%	0,11%	1,43%	0,09%	1,24%	0,08%	1,11%	0,07%	1,07%	0,07%
	B	1,49%	0,08%	2,18%	0,12%	1,54%	0,08%	1,33%	0,08%	1,23%	0,07%	1,04%	0,06%
	C	1,39%	0,10%	2,01%	0,13%	1,42%	0,09%	1,30%	0,09%	1,26%	0,08%	1,04%	0,08%

Données centrées

		Aire		Périmètre		Longueur		Largeur		Grand		Petit	
Année	Zone	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2015	**1**	1,31%	0,07%	1,98%	0,11%			1,22%	0,07%	1,17%	0,06%	1,00%	0,06%
	2	1,40%	0,10%	1,99%	0,14%			1,40%	0,10%	1,20%	0,09%	1,05%	0,07%
	3	1,25%	0,08%	2,05%	0,11%			1,25%	0,08%	1,20%	0,07%	1,05%	0,07%
2015 A		1,34%	0,08%	1,87%	0,10%			1,23%	0,08%			1,07%	0,06%
B		1,40%	0,08%	2,12%	0,12%			1,27%	0,08%			0,97%	0,06%
C		1,38%	0,09%	2,01%	0,13%			1,31%	0,09%			1,04%	0,07%

Valeurs brutes

			Aire		Périmètre		Longueur		Largeur		Grand		Petit	
Année	Zone	Type	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2015	**1**	**A**	1,26%	0,15%	2,27%	0,19%	1,30%	0,12%	1,21%	0,13%	0,98%	0,11%	1,15%	0,12%
		B	1,46%	0,11%	2,30%	0,19%	1,59%	0,13%	1,12%	0,10%	1,27%	0,10%	0,89%	0,08%
		C	1,30%	0,13%	1,85%	0,17%	1,56%	0,13%	1,30%	0,12%	1,27%	0,11%	1,11%	0,11%
	2	**A**	1,34%	0,13%	1,55%	0,16%	1,35%	0,15%	1,15%	0,12%	1,14%	0,13%	0,90%	0,10%
		B	1,59%	0,15%	2,50%	0,23%	1,63%	0,16%	1,72%	0,15%	1,30%	0,14%	1,30%	0,12%
		C												
	3	**A**	1,45%	0,15%	2,25%	0,18%	1,69%	0,22%	1,39%	0,15%	1,24%	0,15%	1,17%	0,14%
		B	1,34%	0,14%	1,71%	0,20%	1,42%	0,14%	1,16%	0,14%	1,09%	0,11%	0,97%	0,12%
		C	1,44%	0,15%	2,21%	0,19%	1,27%	0,13%	1,30%	0,12%	1,23%	0,10%	0,97%	0,11%

Valeurs corrigées pour l'AD

			Aire		Périmètre	
Année	Zone	Type	Moyenne	SE	Moyenne	SE
2014	**1**	**A**	1,22%	0,13%	1,71%	0,19%
		B	1,38%	0,12%	2,23%	0,18%
		C	1,32%	0,12%	1,80%	0,17%
	2	**A**	1,29%	0,12%	1,51%	0,16%
		B	1,53%	0,15%	2,36%	0,23%
		C				
	3	**A**	1,48%	0,15%	1,94%	0,17%
		B	1,29%	0,12%	1,69%	0,21%
		C	1,44%	0,15%	2,17%	0,19%

Normalité: Test de Kolmogorov-Smirnov sur FA6 (D-G)/((D+G)/2)

			Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
		N	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
2015	**1**	188	0,51%	0,039	0,077	-0,189	0,83%	0,047	-0,181	-0,506 •	0,19%	0,046	-0,117	-0,461	0,16%	0,044	0,139	0,093	0,25%	0,036	-0,111	-0,47	0,27%	0,046	0,231	0,081
	2	111	0,54%	0,06	-0,188	-0,328	0,31%	0,055	0,153	-0,084	0,18%	0,046	0,097	0,2	0,27%	0,081	-0,278	0,098	0,12%	0,051	-0,206	0,427	0,42%	0,042	-0,164	0,009
	3	154	0,37%	0,066	0,298	-0,138	0,18%	0,054	-0,163	-0,567 •	0,17%	0,04	-0,145	0,57	0,35%	0,031	0,033	-0,065	0,13%	0,036	0,01	-0,147	0,24%	0,068	0,485	0,226
A		154	0,44%	0,041	0,187	-0,102	0,86%	0,064	-0,066	-0,808 •	0,08%	0,036	0,022	0,809	0,19%	0,046	0,053	0,272	0,16%	0,046	0,091	0,523	0,28%	0,057	0,354	-0,067
B		170	0,55%	0,071	-0,261	-0,392	0,47%	0,029	-0,028	-0,398	0,18%	0,049	-0,208	-0,416	0,39%	0,057	-0,216	0,281	0,14%	0,041	-0,285	-0,325	0,42%	0,047	-0,172	0,51
C		129	0,41%	0,065	0,417	-0,002	0,04%	0,043	-0,122	-0,454	0,29%	0,048	0,051	-0,161	0,16%	0,063	0,135	-0,276	0,25%	0,059	-0,067	-0,404	0,16%	0,093	0,554	0,07

			Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
		N	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis	Moyenne	Max D	Skewness	Kurtosis
2015	**1 A**	55	0,65%	0,097	0,771	0,624	1,55%	0,088	-0,484	0,131	0,14%	0,076	-0,311	-0,339	0,09%	0,087	0,599	0,826	0,37%	0,057	0,245	-0,073	0,28%	0,057	0,336	0,169
	B	66	0,51%	0,107	-0,495	-0,623	0,61%	0,068	-0,013	-0,831 •	0,16%	0,094	-0,288	-0,68	0,37%	0,054	-0,105	-0,396	0,17%	0,076	-0,199	-0,884 •	0,34%	0,088	-0,209	0,38
	C	67	0,41%	0,072	0,222	-0,263	0,45%	0,062	-0,126	-0,159	0,25%	0,083	0,139	-0,385	0,01%	0,066	0,082	-0,065	0,21%	0,072	-0,1	-0,443	0,19%	0,086	0,402	-0,198
	2 A	56	0,58%	0,056	-0,078	-0,519	-0,09%	0,114	0,445	-0,257	0,28%	0,078	0,555	0,532	0,13%	0,097	-0,073	0,457	0,28%	0,063	0,01	1,006	0,29%	0,093	0,323	-0,388
	B	55	0,50%	0,094	-0,232	-0,338	0,72%	0,079	-0,178	-0,322	0,08%	0,049	-0,149	-0,108	0,42%	0,128	-0,457	-0,185	-0,04%	0,069	-0,291	-0,008	0,54%	0,077	-0,496	0,171
	C																									
	3 A	43	-0,02%	0,098	0,168	-0,441	1,21%	0,118	-0,368	-1,096 ••	-0,23%	0,087	0,045	0,856	0,38%	0,075	-0,464	0,142	-0,28%	0,122	0,401	0,626	0,26%	0,128	0,411	-0,348
	B	49	0,66%	0,088	0,163	-0,502	0,01%	0,097	-0,08	0,296	0,32%	0,072	-0,101	-0,535	0,37%	0,111	0,321	0,739	0,28%	0,066	-0,248	-0,325	0,38%	0,08	0,26	1,146•
	C	62	0,41%	0,09	0,565	0,17	-0,41%	0,064	0,002	-0,665	0,33%	0,055	-0,07	0,245	0,32%	0,076	0,239	-0,557	0,29%	0,086	-0,015	-0,308	0,12%	0,116	0,762	0,58

Comparaisons des groupes: ANOVA à 1 facteur sur FA2 |D-G|/((D+G)/2)

	Aire corrigé pour l'AD				Périmètre corrigé pour l'AD				Longueur				Largeur corrigé pour l'AD				Grand corrigé pour l'AD				Petit corrigé pour l'AD			
2015 ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept 1	8,54%	8,54%	879,442	< 2,2E-16	18,20%	18,20%	876,492	< 2,2E-16	9,29E-02	9,29E-02	759,3098	< 2,2E-16	7,34%	7,34%	766,063	< 2,2E-16	6,38%	6,38%	821,889	< 2,2E-16	4,80%	4,80%	736,913	< 2,2E-16
Zone 2	0,01%	0,01%	0,62	5,38E-01	0,01%	0,00%	0,122	8,86E-01	1,00E-05	5,00E-06	0,0412	9,60E-01	0,02%	0,01%	1,275	2,80E-01	0,00%	0,00%	0,09	9,14E-01	0,00%	0,00%	0,186	8,31E-01
Erreur 450	4,37%	0,01%			9,34%	0,02%			5,50E-02	1,22E-04			4,31%	0,01%			3,49%	0,01%			2,93%	0,01%		
Total 452	4,38%				9,35%				5,51E-02				4,34%				3,49%				2,93%			
																	Non corrigé pour l'AD							
Intercept 1	8,51%	8,51%	867,476	< 2,2E-16	18,26%	18,26%	907,313	< 2,2E-16	9,55E-02	9,55E-02	783,3588	< 2,2E-16	7,29%	7,29%	753,152	< 2,2E-16	6,42E-02	6,42E-02	816,5395	< 2,2E-16	4,73%	4,73%	719,647	< 2,2E-16
Type 2	0,00%	0,00%	0,154	8,57E-01	0,05%	0,03%	1,257	2,86E-01	1,63E-04	8,10E-05	0,6662	5,14E-01	0,00%	0,00%	0,202	8,17E-01	1,74E-04	8,70E-05	1,1077	3,31E-01	0,01%	0,01%	0,719	4,88E-01
Erreur 450	4,41%	0,01%			9,05%	0,02%			5,49E-02	1,22E-04			4,35%	0,01%			3,54E-02	7,90E-05			2,96%	0,01%		
Total 452	4,42%				9,10%				5,51E-02				4,36%				3,55E-02				2,97%			

	Aire				Périmètre				Longueur				Largeur				Grand				Petit			
2015 ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept 1	8,95E-02	8,95E-02	831,2875	< 2,2E-16	1,89E-01	1,89E-01	914,8294	< 2,2E-16	9,63E-02	9,63E-02	792,4076	< 2,2E-16	7,47E-02	7,47E-02	775,0434	< 2,2E-16	6,31E-02	6,31E-02	801,285	< 2,2E-16	4,98E-02	4,98E-02	724,9896	< 2,2E-16
Stations 7	5,08E-04	7,30E-05	0,6743	6,94E-01	4,52E-03	6,46E-04	3,1207	3,17E-03	9,86E-04	1,41E-04	1,1597	3,25E-01	1,52E-03	2,17E-04	2,2482	2,954E-2•	4,77E-04	6,80E-05	0,8644	5,35E-01	8,74E-04	1,25E-04	1,8186	8,19E-02
Erreur 445	4,79E-02	1,08E-04			9,21E-02	2,07E-04		••	5,41E-02	1,21E-04			4,29E-02	9,60E-05			3,51E-02	7,90E-05			3,05E-02	6,90E-05		
Total 452	4,84E-02				9,66E-02				5,51E-02				4,44E-02				3,55E-02				3,14E-02			

Valeurs corrigées pour l'AD	Aire				Périmètre			
2015 ddl	SS	MS	F	p	SS	MS	F	p
Intercept 1	8,45%	8,45%	874,077	< 2,2E-16	16,95%	16,95%	841,984	< 2,2E-16
Stations 7	0,04%	0,01%	0,657	7,09E-01	0,36%	0,05%	2,56	1,357E-2•
Erreur 445	4,30%	0,01%			8,96%	0,02%		
Total 452	4,34%				9,32%			

Post-hoc: Tukey HSD

Données brutes

Périmètre	1A	1B	1C	2A	2B	3A	3B	3C
1A								
1B	1,000							
1C	0,703	0,621						
2A	0,106	0,069	0,931					
2B	0,993	0,994	0,192	0,009				
3A	1,000	1,000	0,841	0,213	0,989			
3B	0,433	0,354	0,999	0,999	0,085	0,600		
3C	1,000	1,000	0,821	0,158	0,965	1,000	0,556	

Données corrigées pour l'AD

Périmètre	1A	1B	1C	2A	2B	3A	3B	3C
1A								
1B	0,474							
1C	1,000	0,647						
2A	0,996	0,100	0,957					
2B	0,241	1,000	0,366	0,036				
3A	0,994	0,966	1,000	0,822	0,830			
3B	1,000	0,461	1,000	0,999	0,236	0,990		
3C	0,653	1,000	0,812	0,192	0,996	0,992	0,633	

Longueur	1A	1B	1C	2A	2B	3A	3B	3C
1A								
1B	1,000							
1C	1,000	0,960						
2A	1,000	1,000	0,992					
2B	0,102	0,015	0,249	0,045				
3A	0,988	0,865	1,000	0,947	0,673			
3B	1,000	1,000	0,993	1,000	0,059	0,953		
3C	1,000	0,972	1,000	0,995	0,247	1,000	0,996	

Annexe VII : Analyses des échantillons d'eau prélevés *in situ*

Afin de déterminer l'environnement chimique et plus particulièrement métallique des oblades au moment de leur prélèvement, un échantillon d'eau a été aussi systématiquement récolté. Ces prélèvements étaient ensuite transportés dans un caisson isotherme avec des accumulateurs de froid préalablement réfrigérés à -20°C. A l'arrivée au laboratoire ils étaient immédiatement placés à -20°C dans l'attente de leur analyse. En plus des concentrations pour le cuivre (Cu) et le zinc (Zn), nous nous sommes intéressés à une composition plus générale de l'eau en incluant l'antimoine (Sb) ainsi que les métaux suivants : molybdène (Mo), plomb (Pb), aluminium (Al), vanadium (V), chrome (Cr), manganèse (Mn), cobalt (Co) et nickel (Ni). L'objectif de ces analyses était de comparer les sites élément chimique par élément et d'utiliser la ressemblance entre la totalité des concentrations de la liste pour comparer les stations.

Ces échantillons ont dans un premier temps été traités par l'observatoire du développement durable de Nice, conduisant à la destruction de 8 à 9/10 du volume des différents échantillons. Hormis l'indication laissée sur un des tubes concernant la classique acidification à l'aide de 0,5% d'HNO_3^- (dont la qualité est inconnue), nous n'avons pas réussi à obtenir des informations sur les traitements subis par ces échantillons durant leur séjour à l'observatoire. Les résultats d'analyses fournis étaient inexploitables, non reproductibles. Les restes de ces échantillons ont toutefois pu être récupérés puis analysés par ICP-MS grâce à Cédric Garnier[19] et son équipe du laboratoire PROTEE de l'université de Toulon La Garde. Comme dit précédemment, ces données sont donc seulement à considérer du point de vue des concentrations relatives.

Trois analyses en composantes principales (ACP) ont été effectuées sur ces données :

- 2013 : Cr, Cu, Mn, Sb et V,
- 2014 : Co, Cr, Mn, Mo, Sb et V,
- 2015 : Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Sb et V.

[19] GARNIER Cédric, Maître de Conférences – HDR, chef de l'équipe CAPTE (Chimie Analytique et Processus de Transferts dans l'Environnement) du Laboratoire PROTEE (PROcessus de Transferts et d'Echanges dans l'Environnement), Université de Toulon La Garde

Le Mo et le Co n'ont pas été utilisés pour l'ACP de 2013 du fait de valeurs manquantes. Le Cu n'a pas été retenu en raison de valeurs aberrantes pour l'année 2014. De plus, le Pb, l'Al, le Ni et le Zn n'ont pas été utilisés car visiblement contaminés au regard des concentrations maximales mesurées dans la rade de Toulon par le deuxième laboratoire.

Les valeurs sous le seuil de détection ont été remplacées par 0 pour ces analyses. Pour chaque élément, la concentration trouvée dans chaque station a été divisée par la valeur moyenne de concentration sur l'ensemble des années, cela afin de limiter l'influence des différences d'échelles entre les différents éléments (ex : facteur 100 entre [Co] et [V]).

Table A-5 : *Oblada melanura*, ACP des concentrations en éléments mesurés, variance expliquée par les cinq premières PC.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
2013	59,8%	27,3%	8,9%	3,9%	0,1%
2014	80,8%	11,5%	4,2%	1,8%	1,7%
2015	84,7%	7,6%	5,3%	1,7%	0,4%

Concernant les PC à utiliser, nous constatons pour l'ACP de 2013 un décrochement entre la PC2 et la PC3 (Table A-5), nous ne conserverons donc pour l'analyse que les PC 1 et 2 qui expliquent à elles seules 87,1% de la variation. Pour les données de 2014 et 2015 nous constatons que la PC 1 explique à elle seule respectivement 80,8% et 84,7% de la variation contre 11,5% et 7,6% pour la PC 2, nous nous contenterons donc aussi de ces 2 PC.

2013

Table A-6 : Concentration des éléments mesurés dans les prélèvements d'eau de 2013.
Concentrations en ppb (10^{-9}/1 ou µg/kg) ; Zo : Zone ; Ty : Type de station ; E : numéro du prélèvement ; Nm. : Non mesuré ; Nd. : Non détecté.

Zo	Ty	E	Mo	Sb	Pb	Al	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn
1	A	1	*Nm.*	0,374	1,720	57,485	1,445	0,459	1,234	*Nd.*	0,709	1,105	26,317
	B	1	*Nm.*	0,348	5,533	45,988	1,801	0,363	4,957	*Nd.*	0,346	1,445	*Nd.*
	C	1	*Nm.*	0,215	0,502	58,556	1,206	0,337	2,888	0,004	0,411	0,951	13,519
2	A	1	*Nm.*	0,394	0,408	36,960	1,624	0,276	1,777	*Nd.*	0,772	0,611	*Nd.*
	B	1	*Nm.*	0,245	0,629	70,829	1,081	0,653	1,995	*Nd.*	0,726	1,482	*Nd.*
	C	1	*Nm.*	0,244	0,211	54,201	1,130	0,424	1,448	*Nd.*	0,373	2,252	*Nd.*
3	A	1	*Nm.*	0,411	0,736	76,412	1,484	0,269	0,710	*Nd.*	0,192	0,702	*Nd.*
		2	*Nm.*	0,394	1,145	33,980	1,868	1,115	1,173	*Nd.*	1,216	2,007	18,860
		3	8,705	0,314	0,485	11,180	1,081	1,669	0,625	0,020	1,107	0,270	*Nd.*
	B	1	*Nm.*	0,395	0,316	7,791	1,584	0,326	0,826	*Nd.*	0,341	0,731	0,318
	C	1	*Nm.*	0,390	0,757	82,966	1,509	1,570	1,403	*Nd.*	0,704	0,444	2,796

Pour l'analyse des données de 2013 et concernant les variables (Table A-6), nous observons que le chrome et le manganèse contribuent principalement à l'axe 1 (Cr : 53,216% et Mn : 32,219%) ainsi qu'à l'axe 2 (Cr : 33,978% et Mn : 54,288%).

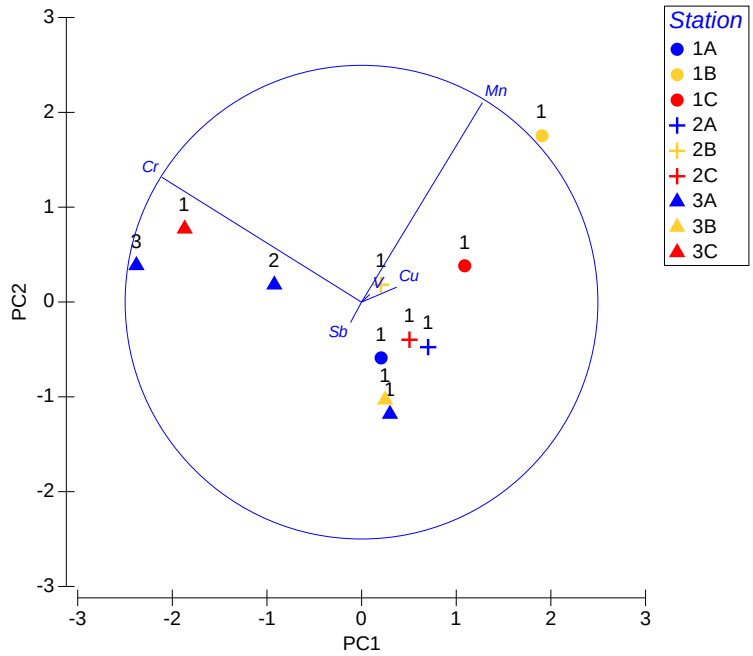


Figure A-0-9 : *Oblada melanura*, ACP des données de concentrations des éléments mesurés en 2013.
Symboles : stations ; noms : numéro de prélèvement répété.
ACP réalisée sur les données de Cr, Cu, Mn, Sb et V. Le Mo et le Co n'ont pas été utilisés du fait de valeurs manquantes. Les valeurs "non détectées" ont été remplacées par 0. Pour chaque élément les valeurs ont été divisée par la moyenne de l'ensemble des stations.
Le Pb, Al, Ni et Zn n'ont pas été pris en compte car visiblement contaminés.

Si nous nous intéressons au nuage de points (Figure A-0-9), plusieurs éléments semblent identifiables. En premier lieu concernant l'axe PC 1, nous observons que les prélèvements plus tardifs (3A_2 et 3A_3) ainsi que la station 3C sont tous à gauche de cet axe (valeurs négatives), la majorité des premiers prélèvements (8/9) se situe donc de fait du côté droit de cet axe (valeurs positives). Pour l'axe PC 2, l'ensemble des stations de type A (premier prélèvement) se situe du côté des valeurs négatives de cet axe ainsi que 2 des 3 stations des zones 2 et 3 (premier prélèvement pour la zone 3), les stations de la zone 1 sont plutôt située du côté des valeurs positives de l'axe 2 (stations 1B et 1C).

2014

Table A-7 : Concentration des éléments mesurés dans les prélèvements d'eau de 2014.
Concentrations en ppb (10^{-9}/1 ou µg/kg) ; Zo : Zone ; Ty : Type de station ; E : numéro du prélèvement ; Nd. : Non détecté.

Zo	Ty	E	Mo	Sb	Pb	Al	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	*Zn*
1	A	1	8,275	0,327	0,100	12,408	1,002	0,217	0,617	0,017	0,314	0,536	*Nd.*
	B	1	7,852	0,312	0,275	20,376	0,900	0,266	1,336	0,016	0,441	1,132	0,792
	C	1	8,678	0,336	1,385	33,746	1,064	0,290	0,752	0,017	0,736	1,491	4,582
2	A	1	7,159	0,260	0,166	20,380	0,873	0,235	0,624	0,018	0,264	0,623	*Nd.*
	B	1	9,256	0,373	3,073	31,797	0,997	0,399	1,470	0,032	0,551	1,120	1,517
	C	1	7,733	0,029	1,635	140,731	1,002	0,419	1,753	*Nd.*	3,501	5,021	13,161
3	A	1	7,816	0,307	0,304	37,351	0,943	0,262	0,585	0,013	0,249	5,926	*Nd.*
		2	10,180	0,102	0,166	32,572	1,374	0,311	0,886	*Nd.*	0,271	0,575	1,806
	B	1	8,401	0,326	0,089	30,238	0,942	0,547	0,958	0,015	0,226	0,446	0,845
	C	1	6,868	0,278	0,472	59,573	0,889	0,552	0,921	0,022	0,673	0,773	2,130
		2	9,120	0,111	*Nd.*	18,174	1,340	0,210	0,771	*Nd.*	0,291	0,430	*Nd.*

Pour l'analyse des données de 2014 et concernant les variables (Table A-7), nous observons que le cobalt et l'antimoine contribuent principalement à l'axe 1 (Co : 58,573% et Sb : 28,076%) et que le manganèse, le chrome, et dans une moindre mesure l'antimoine, contribuent majoritairement à l'axe 2 (Mn : 40,204%, Cr : 29,737% et Sb : 17,821%).

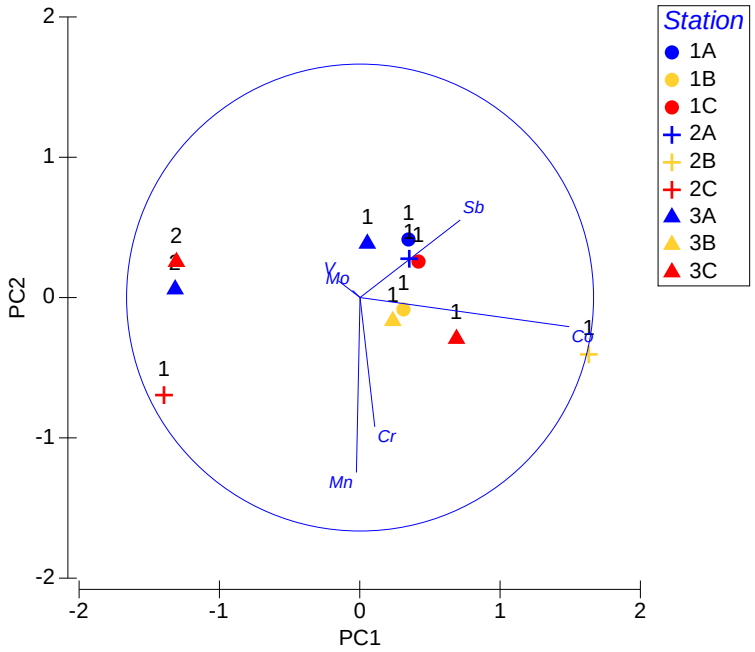


Figure A-0-10 : *Oblada melanura*, ACP des données de concentrations des éléments mesurés en 2014.
Symboles : stations ; noms : numéro de prélèvement répété.
ACP réalisée sur les données de Co, Cr, Mn, Mo, Sb et V, le Cu n'a pas été utilisé du fait des valeurs aberrantes. Les valeurs "non détectées" ont été remplacées par 0. Pour chaque élément les valeurs ont été divisée par la moyenne de l'ensemble des stations.
Le Pb, Al, Ni et Zn n'ont pas été pris en compte car visiblement contaminés.

Si nous nous intéressons au nuage de points (Figure A-0-10), plusieurs éléments semblent identifiables. En premier lieu concernant l'axe PC 1, nous notons que l'ensemble des stations de la zone 1 et de la zone 3 (premier prélèvement) se retrouvent à la droite de cet axe (valeurs positives). Deux des trois stations de la zone 2 se situent aussi à droite de l'axe PC 1. Nous retrouvons à la gauche de cet axe les seconds prélèvements de la zone 3 ainsi que la station 2C. Concernant l'axe 2, nous retrouvons dans la zone positive l'ensemble des stations de type A et dans la zone négative l'ensemble des stations de type B, les stations de type C étant réparties de manière équitable entre la zone positive (1C et 3C second prélèvement) et la zone négative (2C et 3C premier prélèvement).

2015

Table A-8 : Concentration des éléments mesurés dans les prélèvements d'eau de 2015.
Concentrations en ppb (10^{-9}/1 ou µg/kg) ; Zo : Zone ; Ty : Type de station ; E : numéro du prélèvement ; Nd. : Non détecté.

Zo	Ty	E	Mo	Sb	Pb	Al	V	Cr	Mn	Co	Ni	Cu	Zn
1	A	1	9,550	0,201	0,207	12,634	1,306	0,341	0,651	0,017	0,354	0,776	3,154
	B	1	9,931	0,203	0,045	18,508	1,335	0,336	1,290	0,018	0,239	0,890	*Nd.*
	C	1	9,403	0,191	0,176	15,508	1,360	0,185	1,466	0,044	0,391	1,170	4,099
2	A	1	8,955	0,175	0,474	33,763	1,362	0,381	0,816	0,016	0,258	0,779	*Nd.*
	B	1	8,688	0,191	0,365	25,463	1,110	0,263	2,348	0,040	0,865	1,443	*Nd.*
3	A	1	9,634	0,198	0,297	16,600	1,335	0,276	0,790	0,015	0,235	0,510	*Nd.*
		2	10,069	0,130	0,276	32,067	1,632	0,797	1,128	*Nd.*	*Nd.*	0,653	5,027
	B	1	9,791	0,096	0,177	47,683	1,407	0,255	0,543	*Nd.*	0,239	0,435	*Nd.*
	C	1	9,893	0,209	1,293	25,806	1,488	0,358	1,937	0,032	0,473	1,486	6,482
		2	9,727	0,209	0,377	60,815	1,412	0,194	0,834	0,020	0,722	2,125	*Nd.*

Pour l'analyse des données de 2015 et concernant les variables (Table A-8), nous observons que le cobalt, et dans une moindre mesure le manganèse, contribuent principalement à l'axe 1 (Co : 55,822% et Mn : 15,336%) et que le chrome et le manganèse contribuent majoritairement à l'axe 2 (Cr : 44,865% et Mn : 39,099%).

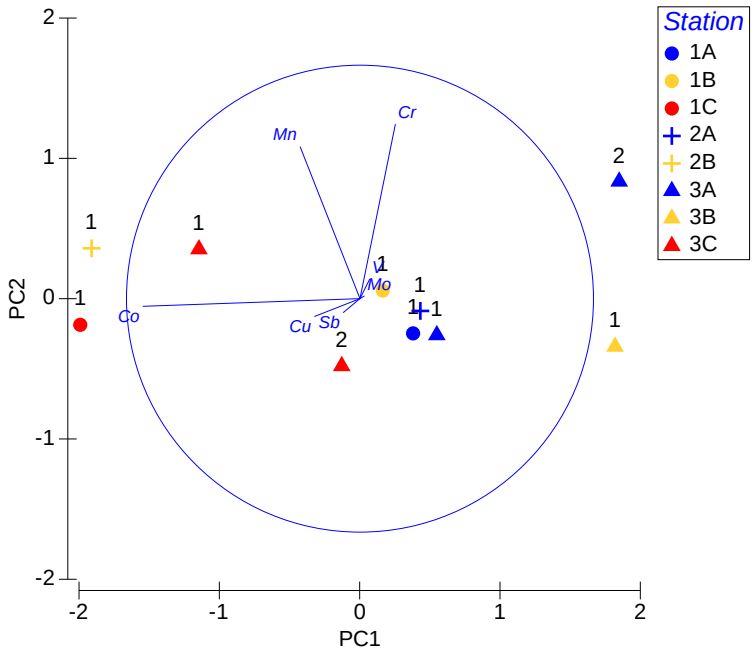


Figure A-0-11 : *Oblada melanura*, ACP des données de concentrations des éléments mesurés en 2015.
Symboles : stations ; noms : numéro de prélèvement répété.
ACP réalisée sur les données de Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Sb et V. Les valeurs "non détectées" ont été remplacées par 0. Pour chaque élément les valeurs ont été divisée par la moyenne de l'ensemble des stations.
Le Pb, Al, Ni et Zn n'ont pas été pris en compte car visiblement contaminés.

Si nous nous intéressons au nuage de points (Figure A-0-11), plusieurs éléments semblent identifiables. En premier lieu concernant l'axe PC 1, nous notons que l'ensemble des stations de type A se situent à la droite de cet axe (valeurs positives) et que l'ensemble des stations de type C se situent à la gauche de cet axe. Concernant l'axe 2 aucune répartition particulière des stations ne semble exister.

Interprétation de ces résultats

Comme nous le suspections du fait des problèmes rencontrés lors de l'analyse des prélèvements d'eau, et malgré notre analyse sur des valeurs relatives, aucune tendance ne semble ressortir pour ces trois années, pour les types de sites ou les zones de prélèvement.

Annexe VIII: Supplementary data growth

Test: *mean and standard deviation calculation* *Factors levels:* *Year:* *2013* *2014* *2015*
Variables: *Std L: Standard lenght* *Type:* *A* *B*
Area: Otolith (Right sagitta) Area *Fishes included:* *All*
Ratio: √Area/Std lenght *Computed with:* *R version 3.3.0 (2016-05-03)*

Standard lenght

Year	Day	Type	N	Min.	1st Qu	Median	3rd Qu	Max.	NA's	Mean	Se
2013	07/10	A	46	0,78	0,85	0,90	1,05	1,35	6	0,97	0,02
	07/24	A	51	0,83	1,09	1,25	1,38	1,73		1,25	0,03
	07/30	A	35	1,10	1,30	1,45	1,55	1,73		1,43	0,03
2014	06/23	A	81	0,85	0,95	0,95	1,00	1,18		0,97	0,01
		B	55	0,80	0,90	0,95	1,00	1,15	7	0,96	0,01
	07/03	A	61	0,90	1,05	1,10	1,15	1,40	1	1,12	0,01
		B	64	0,80	1,10	1,15	1,30	1,55		1,17	0,02
2015	06/25	A	74	0,93	1,10	1,15	1,20	1,45		1,15	0,01
		B	62	0,83	1,08	1,14	1,18	1,40		1,13	0,01
	06/30	A	34	0,85	1,21	1,30	1,45	1,70		1,32	0,03
		B	34	1,05	1,25	1,35	1,40	1,65		1,34	0,02

Area

Year	Day	Type	N	Min.	1st Qu	Median	3rd Qu	Max.	NA's	Mean	Se
2013	07/10	A	46	0,05	0,06	0,11	0,16	1,01	6	0,14	0,02
	07/24	A	51	0,08	0,17	0,24	0,29	0,43		0,23	0,01
	07/30	A	35	0,20	0,29	0,35	0,41	0,48		0,35	0,01
2014	06/23	A	81	0,06	0,09	0,09	0,10	0,17		0,10	0,00
		B	55	0,06	0,09	0,10	0,11	0,15	7	0,10	0,00
	07/03	A	61	0,11	0,16	0,18	0,20	0,29	1	0,18	0,00
		B	64	0,06	0,16	0,21	0,25	0,36		0,20	0,01
2015	06/25	A	74	0,10	0,15	0,17	0,18	0,24		0,17	0,00
		B	62	0,08	0,16	0,17	0,19	0,28		0,18	0,00
	06/30	A	34	0,09	0,20	0,23	0,28	0,38		0,24	0,01
		B	34	0,13	0,23	0,25	0,28	0,40		0,26	0,01

√Area/Std lenght

Year	Day	Type	N	Min.	1st Qu	Median	3rd Qu	Max.	NA's	Mean ('	Se
2013	07/10	A	46	2,75%	3,00%	3,54%	3,64%	11,80%		3,59%	0,20%
	07/24	A	51	3,34%	3,78%	3,84%	3,89%	4,03%		3,81%	0,02%
	07/30	A	35	3,80%	4,01%	4,07%	4,16%	4,57%		4,10%	0,03%
2014	06/23	A	81	2,78%	3,08%	3,18%	3,26%	4,10%		3,18%	0,02%
		B	55	2,84%	3,10%	3,21%	3,40%	3,72%		3,26%	0,03%
	07/03	A	61	3,32%	3,70%	3,83%	3,90%	4,33%		3,80%	0,02%
		B	64	2,95%	3,67%	3,79%	3,90%	4,06%		3,75%	0,03%
2015	06/25	A	74	2,92%	3,43%	3,52%	3,63%	4,64%		3,54%	0,03%
		B	62	3,35%	3,66%	3,73%	3,77%	3,93%		3,72%	0,01%
	06/30	A	34	2,60%	3,58%	3,65%	3,74%	6,00%		3,67%	0,08%
		B	34	3,46%	3,69%	3,74%	3,82%	3,97%		3,74%	0,02%

Test: ANOVA comparisons of means
Variables: Std L: Standard lenght
Area: Otolith (Right sagitta) Area
Ratio: √Area/Std lenght
Used formula: Variable ~ Factor

Factors levels: Year: 2013 2014 2015
Type: A B
Fishes included: All
Computed with: R version 3.3.0 (2016-05-03)

#2013

#A - Dates

Std L:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	2	5,189	2,595	55,270	<2e-16	***
Residuals	156	7,323	0,047			

Area:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	2	0,844	0,342	28,620	0,000	***
Residuals	153	2,256	0,015			

Ratio:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	2	0,001	0,000	3,430	0,035	*
Residuals	150	0,012	0,000			

#2014

#2014-06-23

Std L:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,007	0,007	1,696	0,195	
Residuals	134	0,529	0,004			

Area:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,000	0,000	0,691	0,407	
Residuals	127	0,049	0,000			

Ratio:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,000	0,000	4,615	0,034	*
Residuals	127	0,001	0,000			

#2014-07-03

Std L:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,096	0,096	6,336	0,013	*
Residuals	123	1,861	0,015			

Area:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,010	0,010	4,099	0,045	*
Residuals	122	0,297	0,002			

Ratio:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,000	0,000	1,731	0,191	
Residuals	122	0,000	0,000			

#A - Dates

Std L:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,765	0,765	126,400	<2e-16	***
Residuals	140	0,847	0,006			

Area:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,258	0,258	337,400	<2e-16	***
Residuals	139	0,106	0,001			

Ratio:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,001	0,001	357,100	<2e-16	***
Residuals	139	0,001	0,000			

#B - Dates

Std L:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	1,405	1,406	106,600	<2e-16	***
Residuals	117	1,543	0,013			

Area:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,282	0,282	129,600	<2e-16	***
Residuals	110	0,240	0,002			

Ratio:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,001	0,001	134,800	<2e-16	***
Residuals	110	0,001	0,000			

#2015

#2015-06-25

Std L:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,014	0,014	1,495	0,224	
Residuals	134	1,223	0,009			

Area:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,005	0,005	5,028	0,027	*
Residuals	134	0,126	0,001			

Ratio:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,000	0,000	28,570	0,000	***
Residuals	134	0,000	0,000			

#2015-06-30

Std L:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,013	0,013	0,436	0,511	
Residuals	66	1,904	0,029			

Area:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,006	0,006	1,621	0,207	
Residuals	66	0,258	0,004			

Ratio:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Type	1	0,000	0,000	0,671	0,416	
Residuals	66	0,001	0,000			

#A - Dates

Std L:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,628	0,628	35,100	3,94E-08	***
Residuals	106	1,896	0,018			

Area:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,113	0,113	56,120	2,15E-11	***
Residuals	106	0,213	0,002			

Ratio:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,000	0,000	3,703	0,057	
Residuals	106	0,001	0,000			

#B - Dates

Std L:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,982	0,982	74,990	0,000	***
Residuals	94	1,231	0,013			

Area:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,130	0,130	71,120	0,000	***
Residuals	94	0,172	0,002			

Ratio:	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Day	1	0,000	0,000	1,141	0,288	
Residuals	94	0,000	0,000			

Test: *ANOVA comparisons of means*
Variables: *PC1 Standard lenght*
Used ANOVA formula: *PC1 ~ size*

Test: *Tukey multiple comparisons of means 95% family-wise confidence level*
Fit: *aov(formula = PC1 ~ size)*

Factors levels: *<0,85* *]0,85;0,9]* *]0,9;0,95]* *]0,95;1]* *]1;1,05]* *]1,05;1,1]* *]1,1;1,15]* *]1,15;1,2]* *]1,2;1,25]* *]1,25;1,3]* *]1,3;1,35]* *]1,35;1,4]* *]1,4;1,45]* *]1,45;1,5]* *]1,5;1,55]* *]1,55;1,6]* *]1,6;1,65]* *]1,65;1,7]* *]1,7;1,75]*

Fishes included: *All*
Computed with: *R version 3.3.0 (2016-05-03)*

ANOVA	Df	Sum Sq	Mean Sq	F	value	Pr(F)
size	18	0,489	0,027	#####	0,000	***
Residuals	578	0,236	0,000			

Tukey HSD

Size G1	Size G2	diff	lwr	upr	p adj
<0.85	]0,85;0,9]	0,007	0,011	0,024	0,998
<0.85	]0,9;0,95]	0,016	0,000	0,032	0,050
<0.85	]0,95;1]	0,033	0,017	0,048	0,000
<0.85	]1;1,05]	0,044	0,027	0,060	0,000
<0.85	]1,05;1,1]	0,060	0,043	0,076	0,000
<0.85	]1,1;1,15]	0,061	0,046	0,077	0,000
<0.85	]1,15;1,2]	0,069	0,052	0,086	0,000
<0.85	]1,2;1,25]	0,075	0,058	0,092	0,000
<0.85	]1,25;1,3]	0,081	0,063	0,098	0,000
<0.85	]1,3;1,35]	0,087	0,068	0,105	0,000
<0.85	]1,35;1,4]	0,083	0,062	0,104	0,000
<0.85	]1,4;1,45]	0,092	0,070	0,114	0,000
<0.85	]1,45;1,5]	0,103	0,077	0,129	0,000
<0.85	]1,5;1,55]	0,097	0,067	0,127	0,000
<0.85	]1,55;1,6]	0,083	0,049	0,118	0,000
<0.85	]1,6;1,65]	0,101	0,071	0,131	0,000
<0.85	]1,65;1,7]	0,098	0,063	0,132	0,000
<0.85	]1,7;1,75]	0,110	0,058	0,162	0,000
]0.85;0.9]	]0,9;0,95]	0,009	0,006	0,024	0,809
]0.85;0.9]	]0,95;1]	0,026	0,011	0,041	0,000
]0.85;0.9]	]1;1,05]	0,037	0,022	0,052	0,000
]0.85;0.9]	]1,05;1,1]	0,053	0,037	0,069	0,000
]0.85;0.9]	]1,1;1,15]	0,054	0,040	0,069	0,000
]0.85;0.9]	]1,15;1,2]	0,062	0,046	0,078	0,000
]0.85;0.9]	]1,2;1,25]	0,068	0,052	0,085	0,000
]0.85;0.9]	]1,25;1,3]	0,074	0,057	0,090	0,000
]0.85;0.9]	]1,3;1,35]	0,080	0,062	0,097	0,000
]0.85;0.9]	]1,35;1,4]	0,076	0,056	0,097	0,000
]0.85;0.9]	]1,4;1,45]	0,085	0,064	0,107	0,000
]0.85;0.9]	]1,45;1,5]	0,096	0,071	0,122	0,000
]0.85;0.9]	]1,5;1,55]	0,090	0,060	0,119	0,000
]0.85;0.9]	]1,55;1,6]	0,076	0,042	0,110	0,000
]0.85;0.9]	]1,6;1,65]	0,094	0,065	0,124	0,000
]0.85;0.9]	]1,65;1,7]	0,091	0,057	0,125	0,000
]0.85;0.9]	]1,7;1,75]	0,104	0,052	0,155	0,000
]0.9;0.95]	]0,95;1]	0,016	0,003	0,030	0,002
]0.9;0.95]	]1;1,05]	0,027	0,014	0,041	0,000
]0.9;0.95]	]1,05;1,1]	0,044	0,030	0,058	0,000
]0.9;0.95]	]1,1;1,15]	0,045	0,033	0,058	0,000
]0.9;0.95]	]1,15;1,2]	0,053	0,039	0,067	0,000
]0.9;0.95]	]1,2;1,25]	0,059	0,045	0,074	0,000
]0.9;0.95]	]1,25;1,3]	0,064	0,049	0,079	0,000
]0.9;0.95]	]1,3;1,35]	0,070	0,054	0,087	0,000
]0.9;0.95]	]1,35;1,4]	0,067	0,048	0,086	0,000
]0.9;0.95]	]1,4;1,45]	0,076	0,056	0,096	0,000
]0.9;0.95]	]1,45;1,5]	0,087	0,062	0,111	0,000
]0.9;0.95]	]1,5;1,55]	0,081	0,052	0,109	0,000
]0.9;0.95]	]1,55;1,6]	0,067	0,034	0,100	0,000
]0.9;0.95]	]1,6;1,65]	0,085	0,056	0,113	0,000
]0.9;0.95]	]1,65;1,7]	0,082	0,048	0,115	0,000
]0.9;0.95]	]1,7;1,75]	0,094	0,043	0,146	0,000
]0.95;1.0]	]1;1,05]	0,011	0,002	0,024	0,246
]0.95;1.0]	]1,05;1,1]	0,027	0,014	0,041	0,000
]0.95;1.0]	]1,1;1,15]	0,029	0,017	0,041	0,000
]0.95;1.0]	]1,15;1,2]	0,037	0,023	0,051	0,000
]0.95;1.0]	]1,2;1,25]	0,043	0,028	0,057	0,000
]0.95;1.0]	]1,25;1,3]	0,048	0,033	0,063	0,000
]0.95;1.0]	]1,3;1,35]	0,054	0,038	0,070	0,000
]0.95;1.0]	]1,35;1,4]	0,051	0,031	0,070	0,000
]0.95;1.0]	]1,4;1,45]	0,060	0,040	0,080	0,000
]0.95;1.0]	]1,45;1,5]	0,070	0,046	0,095	0,000
]0.95;1.0]	]1,5;1,55]	0,064	0,036	0,093	0,000
]0.95;1.0]	]1,55;1,6]	0,050	0,017	0,084	0,000
]0.95;1.0]	]1,6;1,65]	0,068	0,040	0,097	0,000
]0.95;1.0]	]1,65;1,7]	0,065	0,032	0,098	0,000
]0.95;1.0]	]1,7;1,75]	0,078	0,026	0,129	0,000
]1.0;1.05]	]1,05;1,1]	0,016	0,003	0,030	0,004
]1.0;1.05]	]1,1;1,15]	0,018	0,006	0,030	0,000
]1.0;1.05]	]1,15;1,2]	0,026	0,011	0,040	0,000
]1.0;1.05]	]1,2;1,25]	0,032	0,017	0,046	0,000
]1.0;1.05]	]1,25;1,3]	0,037	0,022	0,052	0,000
]1.0;1.05]	]1,3;1,35]	0,043	0,027	0,059	0,000
]1.0;1.05]	]1,35;1,4]	0,040	0,020	0,059	0,000
]1.0;1.05]	]1,4;1,45]	0,049	0,029	0,069	0,000
]1.0;1.05]	]1,45;1,5]	0,060	0,035	0,084	0,000
]1.0;1.05]	]1,5;1,55]	0,053	0,025	0,082	0,000
]1.0;1.05]	]1,55;1,6]	0,040	0,006	0,073	0,004
]1.0;1.05]	]1,6;1,65]	0,057	0,029	0,086	0,000
]1.0;1.05]	]1,65;1,7]	0,054	0,021	0,088	0,000
]1.0;1.05]	]1,7;1,75]	0,067	0,016	0,118	0,001
]1.05;1.1]	]1,1;1,15]	0,001	0,011	0,014	1,000
]1.05;1.1]	]1,15;1,2]	0,009	0,005	0,024	0,752
]1.05;1.1]	]1,2;1,25]	0,015	0,001	0,030	0,032
]1.05;1.1]	]1,25;1,3]	0,021	0,005	0,036	0,000
]1.05;1.1]	]1,3;1,35]	0,027	0,010	0,043	0,000
]1.05;1.1]	]1,35;1,4]	0,023	0,004	0,043	0,005
]1.05;1.1]	]1,4;1,45]	0,032	0,012	0,053	0,000
]1.05;1.1]	]1,45;1,5]	0,043	0,018	0,068	0,000
]1.05;1.1]	]1,5;1,55]	0,037	0,008	0,066	0,001
]1.05;1.1]	]1,55;1,6]	0,023	0,010	0,057	0,599
]1.05;1.1]	]1,6;1,65]	0,041	0,012	0,070	0,000
]1.05;1.1]	]1,65;1,7]	0,038	0,005	0,071	0,009
]1.05;1.1]	]1,7;1,75]	0,050	0,001	0,102	0,062
]1.1;1.15]	]1,15;1,2]	0,008	0,005	0,021	0,845
]1.1;1.15]	]1,2;1,25]	0,014	0,000	0,027	0,034
]1.1;1.15]	]1,25;1,3]	0,019	0,005	0,033	0,000
]1.1;1.15]	]1,3;1,35]	0,025	0,010	0,041	0,000
]1.1;1.15]	]1,35;1,4]	0,022	0,003	0,040	0,006
]1.1;1.15]	]1,4;1,45]	0,031	0,011	0,051	0,000
]1.1;1.15]	]1,45;1,5]	0,042	0,018	0,066	0,000
]1.1;1.15]	]1,5;1,55]	0,035	0,007	0,064	0,002
]1.1;1.15]	]1,55;1,6]	0,022	0,011	0,055	0,684
]1.1;1.15]	]1,6;1,65]	0,040	0,011	0,068	0,000
]1.1;1.15]	]1,65;1,7]	0,037	0,004	0,069	0,013
]1.1;1.15]	]1,7;1,75]	0,049	0,002	0,100	0,078
]1.15;1.2]	]1,2;1,25]	0,006	0,009	0,021	0,996

	<0,85	]0,85;0,9]	]0,9;0,95]	]0,95;1]	]1;1,05]	]1,05;1,1]	]1,1;1,15]	]1,15;1,2]	]1,2;1,25]	]1,25;1,3]	]1,3;1,35]	]1,35;1,4]	]1,4;1,45]	]1,45;1,5]	]1,5;1,55]	]1,55;1,6]	]1,6;1,65]	]1,65;1,7]	]1,7;1,75]
<0,85																			
]0,85;0,9]	0,998																		
]0,9;0,95]	0,05	0,809																	
]0,95;1]	0	4E-07	0,002																
]1;1,05]	0	0	0	0,246															
]1,05;1,1]	0	0	0	0	0,004														
]1,1;1,15]	0	0	0	0	7E-05	1													
]1,15;1,2]	0	0	0	0	1E-07	0,752	0,845												
]1,2;1,25]	0	0	0	0	0	0,032	0,034	0,996											
]1,25;1,3]	0	0	0	0	0	5E-04	4E-04	0,535	1										
]1,3;1,35]	0	0	0	0	0	3E-06	2E-06	0,033	0,673	0,999									
]1,35;1,4]	0	0	0	0	0	0,005	0,006	0,573	0,997	1	1								
]1,4;1,45]	0	0	0	0	0	6E-06	6E-06	0,013	0,29	0,907	1	0,999							
]1,45;1,5]	0	0	0	0	0	2E-07	2E-07	3E-04	0,014	0,161	0,758	0,563	0,999						
]1,5;1,55]	0	0	0	0	0	0,001	0,002	0,083	0,469	0,903	1	0,992	1	1					
]1,55;1,6]	0	0	0	2E-05	0,004	0,599	0,684	0,995	1	1	1	1	1	0,953	1				
]1,6;1,65]	0	0	0	0	0	1E-04	1E-04	0,016	0,169	0,601	0,975	0,899	1	1	1	0,993			
]1,65;1,7]	0	0	0	0	2E-06	0,009	0,013	0,212	0,661	0,953	1	0,996	1	1	1	1	1		
]1,7;1,75]	0	0	0	2E-05	8E-04	0,062	0,078	0,323	0,635	0,87	0,984	0,952	1	1	1	0,984	1	1	

]1.15;1.2]	]1,25;1,3]	0,011	0,004	0,027	0,535
]1.15;1.2]	]1,3;1,35]	0,017	0,001	0,034	0,033
]1.15;1.2]	]1,35;1,4]	0,014	0,006	0,034	0,573
]1.15;1.2]	]1,4;1,45]	0,023	0,002	0,044	0,013
]1.15;1.2]	]1,45;1,5]	0,034	0,009	0,059	0,000
]1.15;1.2]	]1,5;1,55]	0,028	0,001	0,057	0,083
]1.15;1.2]	]1,55;1,6]	0,014	0,020	0,048	0,995
]1.15;1.2]	]1,6;1,65]	0,032	0,003	0,061	0,016
]1.15;1.2]	]1,65;1,7]	0,029	0,005	0,062	0,212
]1.15;1.2]	]1,7;1,75]	0,041	0,010	0,093	0,323
]1.2;1.25]	]1,25;1,3]	0,005	0,011	0,021	1,000
]1.2;1.25]	]1,3;1,35]	0,011	0,006	0,028	0,673
]1.2;1.25]	]1,35;1,4]	0,008	0,012	0,028	0,997
]1.2;1.25]	]1,4;1,45]	0,017	0,004	0,038	0,290
]1.2;1.25]	]1,45;1,5]	0,028	0,003	0,053	0,014
]1.2;1.25]	]1,5;1,55]	0,022	0,008	0,051	0,469
]1.2;1.25]	]1,55;1,6]	0,008	0,026	0,042	1,000
]1.2;1.25]	]1,6;1,65]	0,026	0,004	0,055	0,169
]1.2;1.25]	]1,65;1,7]	0,023	0,011	0,056	0,661
]1.2;1.25]	]1,7;1,75]	0,035	0,017	0,087	0,635
]1.25;1.3]	]1,3;1,35]	0,006	0,011	0,024	0,999
]1.25;1.3]	]1,35;1,4]	0,003	0,018	0,023	1,000
]1.25;1.3]	]1,4;1,45]	0,012	0,010	0,033	0,907
]1.25;1.3]	]1,45;1,5]	0,023	0,003	0,048	0,161
]1.25;1.3]	]1,5;1,55]	0,016	0,013	0,046	0,903
]1.25;1.3]	]1,55;1,6]	0,003	0,031	0,037	1,000
]1.25;1.3]	]1,6;1,65]	0,020	0,009	0,050	0,601
]1.25;1.3]	]1,65;1,7]	0,017	0,017	0,051	0,953
]1.25;1.3]	]1,7;1,75]	0,030	0,022	0,082	0,870
]1.3;1.35]	]1,35;1,4]	0,003	0,025	0,018	1,000
]1.3;1.35]	]1,4;1,45]	0,006	0,016	0,028	1,000
]1.3;1.35]	]1,45;1,5]	0,016	0,010	0,043	0,758
]1.3;1.35]	]1,5;1,55]	0,010	0,020	0,040	1,000
]1.3;1.35]	]1,55;1,6]	0,004	0,038	0,031	1,000
]1.3;1.35]	]1,6;1,65]	0,014	0,016	0,044	0,975
]1.3;1.35]	]1,65;1,7]	0,011	0,023	0,046	1,000
]1.3;1.35]	]1,7;1,75]	0,024	0,028	0,076	0,984
]1.35;1.4]	]1,4;1,45]	0,009	0,015	0,034	0,999
]1.35;1.4]	]1,45;1,5]	0,020	0,008	0,048	0,563
]1.35;1.4]	]1,5;1,55]	0,014	0,018	0,045	0,992
]1.35;1.4]	]1,55;1,6]	0,000	0,036	0,036	1,000
]1.35;1.4]	]1,6;1,65]	0,018	0,014	0,050	0,899
]1.35;1.4]	]1,65;1,7]	0,015	0,021	0,051	0,996
]1.35;1.4]	]1,7;1,75]	0,027	0,026	0,080	0,952
]1.4;1.45]	]1,45;1,5]	0,011	0,018	0,040	0,999
]1.4;1.45]	]1,5;1,55]	0,005	0,028	0,037	1,000
]1.4;1.45]	]1,55;1,6]	0,009	0,046	0,027	1,000
]1.4;1.45]	]1,6;1,65]	0,009	0,024	0,041	1,000
]1.4;1.45]	]1,65;1,7]	0,006	0,031	0,042	1,000
]1.4;1.45]	]1,7;1,75]	0,018	0,035	0,072	1,000
]1.45;1.5]	]1,5;1,55]	0,006	0,041	0,029	1,000
]1.45;1.5]	]1,55;1,6]	0,020	0,059	0,019	0,953
]1.45;1.5]	]1,6;1,65]	0,002	0,037	0,033	1,000
]1.45;1.5]	]1,65;1,7]	0,005	0,044	0,034	1,000
]1.45;1.5]	]1,7;1,75]	0,007	0,048	0,063	1,000
]1.5;1.55]	]1,55;1,6]	0,014	0,056	0,028	1,000
]1.5;1.55]	]1,6;1,65]	0,004	0,034	0,042	1,000
]1.5;1.55]	]1,65;1,7]	0,001	0,041	0,043	1,000
]1.5;1.55]	]1,7;1,75]	0,014	0,044	0,071	1,000
]1.55;1.6]	]1,6;1,65]	0,018	0,024	0,060	0,993
]1.55;1.6]	]1,65;1,7]	0,015	0,030	0,060	1,000
]1.55;1.6]	]1,7;1,75]	0,027	0,032	0,087	0,984
]1.6;1.65]	]1,65;1,7]	0,003	0,045	0,039	1,000
]1.6;1.65]	]1,7;1,75]	0,009	0,048	0,067	1,000
]1.65;1.7]	]1,7;1,75]	0,012	0,047	0,072	1,000

Test: *ANOVA comparisons of means*
Variables: *Ratio: (Votolith Area) / Standard Lenght*
Used formula: *Variable ~ Factor*
Fishes included: *>11mm*
Computed with: *R version 3.3.0 (2016-05-03)*

Factors levels:
Type: *A* *B*
Date: *2013:* *07_10* *07_24* *07_30* *2014:* *06_23* *07_03* *2015:* *06_25* *06_30*
Year: *2013* *2014* *2015*

2013

2013	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	p
Date:	2	1,71E-04	8,55E-05	2,936	0,0573
Residuals	107	3,11E-03	2,91E-05		

Between year comparison

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	p	
Year:	2	0,000608	3,39E-04	26,01	2,64E-11	***
residuals	376	0,004394	1,17E-05			

Tukey HSD		diff	lwr	upr	p	
2013	2014	-0,002	-0,003	0,000	0,002	**
2013	2015	-0,003	-0,004	-0,002	0,000	***
2014	2015	-0,001	-0,002	0,000	0,004	**

2014

06_23	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)	
Type:	1	0,0017%	0,0017%	9,364	0,038	*
Residuals	4	0,0007%	0,0002%			

07_03	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)
Type:	1	0,0001%	0,0001%	0,58	0,448
Residuals	91	0,0195%	0,0002%		

2014	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	p	
Date:	1	2,17E-04	2,17E-04	95,29	4,38E-16	***
Residuals	97	2,21E-04	2,27E-06			

2015

06_25	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)	
Type:	1	0,0120%	0,0120%	43,09	0,000	***
Residuals	105	0,0292%	0,0003%			

06_30	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(F)	
Type:	1	0,0031%	0,0031%	8,978	0,004	**
Residuals	61	0,0208%	0,0003%			

2015	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	p	
Date:	1	2,29E-05	2,30E-05	5,938	0,016	*
Residuals	168	6,49E-04	3,87E-06			

Publications

Publiées

Vandenbussche PSP, Spennato G, Francour P, Pierson PM. Validation of a simple and well-suited chemical cleaning method for fish otoliths. Acta Zool. 2017;00:1–5. https://doi.org/10.1111/azo.12209

Soumises

Vandenbussche PSP, Spennato G, Pierson PM. Assessment of the use of *Oblada melanura* (L. 1758) otolith fluctuating asymmetry as environmental disturbance indicator.

Vandenbussche PSP, Spennato G, Pierson PM. Juvenile *Oblada melanura* (L. 1758) otolith shape variation as an early environmental indicator

Vandenbussche PSP, Spennato G, Pierson PM. Juvenile *Oblada melanura* (L. 1758) otolith shape is impacted near recreational harbours and not by natural sources of potential contamination

Résumé

En tant qu'interface entre milieux marin et terrestre, les côtes présentent une large variété d'écosystèmes. En plus de son importance écologique, cette interface présente une forte attraction pour l'être humain et ses activités. En conséquence, le suivi des impacts anthropiques sur les environnements côtiers, à l'aide d'indicateurs sensibles, est une nécessité. Dans ce contexte, cette étude avait pour but de valider un indicateur de la qualité de l'environnement, parmi trois approches : des mesures morphologiques de juvéniles de poissons ; la quantification de l'asymétrie fluctuante de leurs otolithes ; l'analyse de la forme de leurs otolithes.

Les résultats obtenus *in aquaria* ont montré, pour *Dicentrarchus labrax,* une absence d'effet de mono-contaminations à l'aide de polluants classiques comme le phosphore ou le zinc, à des concentrations correspondant à celles *in situ* dans des zones fortement anthropisées. Des concentrations plus élevées de zinc ont toutefois induit une modification de la forme des otolithes en plus d'un effet négatif sur la taille et le poids.

Grâce à nos campagnes de prélèvement *in situ* de juvéniles d'*Oblada melanura,* réalisées sur trois ans, nous avons démontré de manière reproductible que, comparativement à des sites préservés et des arrivées de petits cours d'eau, des ports de plaisance de taille moyenne ont un effet négatif sur la longueur standard des juvéniles et induisent une modification de la forme de leurs otolithes. En regard des résultats *in aquaria*, ces modifications vont dans le sens d'une synergie des sources de perturbations qui prises indépendamment ne produiraient pas d'effet.

De l'ensemble de nos résultats nous pouvons déduire que les tailles et poids sont facilement mesurables mais présentent des variabilités dans leurs réponses. La mesure de l'asymétrie des otolithes de juvéniles ne semble pas adaptée à une utilisation en bioindication. Au contraire, l'analyse de formes des *sagittae* de juvéniles est bien adaptée pour suivre des modifications de l'environnement pour des poissons de deux familles différentes, Moronidés et Sparidés. Cette analyse semble un outil prometteur en bioindication, applicable pour les gestionnaires de l'environnement.