

## Action n°82 - Agence de l'Eau RMC/ZABR 2022

Exposition paternelle aux **PCB** d'un poisson lacustre patrimonial sténotherme froid : mise au point de méthodes d'analyse non invasives et effets sur la descendance.

**Emilie Réalis-Doyelle (1,2) ; Mathieu Pin (3) ; Jean Guillard (1,2) ; Stéphane Reynaud (4) ; Emmanuel Naffrechoux (2)**

- (1) Univ. Savoie Mont Blanc, INRAE, CARRTEL
- (2) Pôle R&D ECLA (ECosystèmes Lacustres) (INRAE – USMB)
- (3) Univ. Savoie Mont Blanc, EDYTEM UMR CNRS-USMB
- (4) Univ.Grenoble Alpes, LECA, UMR UGA-USMB-CNRS 5553

## Sommaire

<b>I. Livrables .....</b>	<b>6</b>
I.1 Mise au point d'un protocole innovant non invasif .....	Erreur ! Signet non défini.
I.2 Effet seuil :.....	Erreur ! Signet non défini.
I.3 Pratiques de repeuplement .....	10
<b>II. Contexte général .....</b>	<b>14</b>
<b>III. Matériels et méthodes .....</b>	<b>20</b>
III.1 Les poissons.....	20
III.2 Les installations .....	21
III.3 Dosage des PCB .....	22
III.4 Stades biologiques .....	22
III.5 Paramètres Bio-démographiques.....	23
III.5.1 Temps de développement.....	23
III.5.2 Taux de survie .....	23
III.5.3 Données morphologiques .....	24
III.5.4 Taux de croissance spécifique .....	24
III.5.5 Taux de malformations.....	24
III.6 Paramètres comportementales .....	25
III.6.1 Test d'agressivité interindividuel .....	25
III.6.2 Test d'activité .....	26
III.6.3 Test d'anxiété .....	26
III.7 Paramètres Physiologiques.....	27
III.7.1 Paramètres de performances physiologiques :.....	27
III.7.2 Dosage des Stress .....	27
<b>IV. Les analyses statistiques.....</b>	<b>29</b>
IV.1 Analyse globale des données .....	29
<b>V. Résultats .....</b>	<b>30</b>
V.1 Dosage des PCB .....	30
V.2 Paramètres biodémographiques.....	31
V.2.1 Temps de développement .....	31
V.2.2 Taux de survie .....	32
V.2.3 Taux de malformation .....	33
V.2.4 Taux de croissance .....	34
V.1 Paramètres comportementaux.....	34
V.1.1 Test d'agressivité interindividuelles .....	34
V.1.2 Tests d'activités .....	34
V.1.3 Test d'anxiété.....	35
V.2 Paramètres Physiologiques .....	35
V.2.1 Paramètres de performances .....	35
V.2.2 Les analyses de stress .....	36
<b>VI. Discussion .....</b>	<b>37</b>
<b>VII. Références .....</b>	<b>47</b>
<b>VIII. Valorisation.....</b>	<b>57</b>



## Sommaire des figures et tableaux

<i>Figure I-1 : Variations des traits physiologiques et comportementaux en fonction des stratégies biodémographiques et des rythmes de vie d'après le syndrome des rythmes de vie. D'après Réale et al. (2010).</i> .....	14
<i>Figure I-2 : Effets croisés de la température et des polluants sur la performance biologique des organismes sur la tolérance aux stress (Gandar, 2015 adapté de Sokolova et al. 2012).</i> .....	18
<i>Figure I-3 : Évolution des statistiques de pêche (pêche professionnelle) pour le lavaret (<i>Coregonus lavaretus</i>) (trait plein orange) et l'omble chevalier (<i>Salvelinus alpinus</i>) (trait bleu pointillé) (Guillard et al. 2015). Arret des comptages de la péches professionnelle en 2011 en raison de l'interdiction de commercialisation de l'omble Chevalier.</i> .....	19
<i>Figure II-1 : Photographies des chambres thermo statées contenant les dispositifs expérimentaux. a) vue de l'extérieur, b) Vue de l'intérieur avec un incubateur et ses racks recouvertes de structures opacifiantes nécessaire à l'élevage embryo-larvaire.</i> .....	22
<i>Figure II-2: Schéma des stades biologiques étudiés et des stades associés de développement (P1 = fécondation – éclosion ; P2 = éclosion – émergence ; P3 = émergence – alimentation mixte ; P4 = alimentation mixte – alimentation exogène et P5= alimentation exogène – juvénile 1).(dessin ; Vernier , 1969).</i> .....	23
<i>Figure II-4 : photographie du dispositif expérimentale en arène @François-Raphael Lubin</i> .....	25
<i>Figure II-5 : Test d'anxiété. L'individu est placé seul dans un nouvel environnement. Le positionnement dans la zone en périphérie ou au centre est suivi (d'après Ferrari et al. 2014). Le positionnement dans la zone basse ou haute de l'arène est mesuré (d'après Egan et al. 2009).</i> .....	27
<i>Figure IV-2 :Evolution temporelle du pourcentage de survie pour chaque condition. La courbe verte peine correspond aux larves issues des témoins incubés à 4,5°C, la courbe orange pleine correspond aux larves issues des mâles moyennement contaminé en PCB incubés à 4,5°C ; la courbe rouge pleine correspond aux larves issues des mâles fortement contaminé en PCB incubés à 4,5°C ; La courbe verte pointillée correspond aux larves issues des témoins incubés à 8,5°C, la courbe orange pointillée correspond aux larves issues des mâles moyennement contaminé en PCB incubés à 8,5°C ; la courbe rouge pointillée correspond aux larves issues des mâles fortement contaminé en PCB incubés à 8,5°C.</i> .....	33
<i>Figure IV-4 : Synthèse des différents paramètres significatifs des comportements testés. Les données exprimées sont des moyennes ± erreur-type. Les lettres représentent les différences statistiques significatives (<math>p &lt; 0,05</math>) obtenues par le test de Student.</i> .....	35
<i>Figure V-1 :Taux de PCB chez l'omble chevalier (3 ans) d'après (Monod et Keck, 1982)</i> .....	38
<b>Tableau 1 : Teneur en PCB dans les mâles.....</b>	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>Tableau 2 : Dispositif expérimental pour les mâles ayant reçu une seule injection intrapéritonéale de PCB (Aroclor@ 124), un mois avant la ponte.</i> .....	20
<i>Tableau 3 : Teneur en PCB dans les mâles et les larves (N= 7 / conditionnements). Les données exprimées sont des moyennes ± erreur-type. Les étoiles représentent les différences statistiques significatives (<math>p &lt; 0,05</math>) obtenues par le test de student.</i> .....	<b>Erreur ! Signet non défini.</b>
<i>Tableau 4 : Tableau récapitulatif des paramètres biodémographiques. Les données exprimées sont des moyennes ± erreur-type. Les étoiles représentent les différences statistiques significatives (<math>p &lt; 0,05</math>) obtenues par le test du Chi 2 pour RT et le taux de malformations et test de student pour le temps total et le taux de croissance. E: Eclosion, Em: émergence, AM:Alimentation mixte, AE: alimentation</i>	

*exogène; J: Juvénile. .... Erreur ! Signet non défini.*

*Tableau 5 : Tableau de synthèse des paramètres physiologiques testés. Les données exprimées sont des moyennes ± erreur-type. Les lettres représentent les différences statistiques significatives ( $p < 0,05$ ) obtenues par le test de Student..... 36*

*Tableau 6 : Tableau récapitulatif de la réponse aux des paramètres répondant à la théorie des POLS (Réals et al. 2007) et Copy style. Le + et couleur verte = réponse forte, - et couleur orange = réponse faible..... 47*

## I. Livrables

Dans la suite du texte, la concentration en PCB est, sauf mention particulière, exprimée en ng des 6 PCB<sub>i</sub> (les PCB indicateurs sauf le PCB118) par gramme de poids frais de la matrice biologique considérée, sous la formulation ngPCB/g.

### I.1 Méthode non invasive de dosage des PCB dans le poisson

#### Protocole

Vingt et un géniteurs mâles d'omble chevalier provenant de la structure expérimentale de Thonon-les-Bains (UMR-INRAE CARRTEL -ISC OLA et IR OLA AnnaEE-F) ( $1,1 \pm 1,2$  kg et  $40,1 \pm 1,1$  cm) ont été contaminé par une solution d'Arochlor1254 dans de l'huile d'arachide (Huile d'arachide @LESIEUR) via une injection intra-péritonéale ( $0,6 \pm 0,04$  µL en fonction du poids de chaque mâle) réalisée à l'aide d'une seringue à t=0 dans chaque poisson (anesthésie avec de la benzocaine à 0,33 g/L).

#### Laitance et sang

Le prélèvement de la laitance et du sang se réalise sous anesthésie de benzocaine à 0,33 g/L à 28 jours post injection.

- Le prélèvement de sang s'effectue dans la veine caudale à l'aide d'une seringue pédiatrique de 5 ml. Le sang total prélevé (5 ml) est ensuite injecté dans un tube épariné de 5 ml. Les tubes sont centrifugés à 4°C pendant 10 min à 2000 rpm. Le sérum est prélevé et stocké à -80°C en attendant d'être analysé.
- La laitance ( $1,5 \pm 0,4$  ml) est prélevée par stripping (pression abdominale douce) et recueillie dans un tube eppendorff, puis stocké à -80°C en attendant d'être analysé.

#### *Par échantillon :*

1ml sérum + 1 ml acide formique + 100µL ACN

US pendant 30 minutes

#### *Mode opératoire :*

1/ SPE C18 (Sep-Pak Waters 3 cc – 500 mg)

- Lavage par 2 ml dichlorométhane puis sécher la cartouche sous vide
  - Activation par 2 ml méthanol puis 2 ml eau UHQ – ne pas laisser sécher
  - Chargement de l'échantillon obtenu en A
  - Rinçage par 2 ml eau UHQ
  - Séchage sous vide (10 min -20 psi)
  - Elution : 2 ml Heptane
- 1 ml heptane/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1 :1)

2/ SPE SILICE ACIDE (2g)

Silice acide : 25g silice + 12.5 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré

- Lavage par 1ml heptane/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1)
  - Chargement de l'échantillon obtenu en B
  - Elution: 2 ml heptane
- 1 ml heptane/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (1:1)

### Filets

Les filets musculaires ( $118,9 \pm 7,8$  g) sont prélevés à  $t= 28$  jours post injection, après avoir euthanasié les poissons sous benzocaine à 0,66 g/L. Les filets musculaires sont prélevés sous la peau, en éliminant au maximum la couche de gras sous-cutané. Les filets sont ensuite stockés dans un emballage aluminium et mis à -80°C en attendant d'être analysés.

### *Par échantillon :*

50 µL d'étalon interne 116-d5  
60 mL mélange Heptane-Acétone (50:50)  
Eau UHQ  
5 mL H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

### *Mode opératoire :*

- 1) Dans un ballon verre de 100 introduire mL une masse exactement pesée environ 10 g de filet musculaire
- 2) Ajouter l'étalon interne PCB116-d5 (50 µL d'une solution 0,5 µg/mL, si reprise finale de l'échantillon purifié dans 500 µL heptane)
- 3) Ajouter 40 mL mesuré à l'éprouvette du mélange (50/50) heptane-acétone
- 4) Placer le ballon dans un bac à ultrasons (fréquence 20 à 80 kHz) rempli d'eau à 40°C durant 15 minutes
- 5) Transvaser la phase liquide dans une ampoule à décanter à robinet téflon de 125 mL
- 6) Ajouter 20 mL du mélange (50/50) heptane-acétone dans le ballon et passer à nouveau 15 minutes aux ultrasons
- 7) Laver l'acétone par ajout d'environ 15 mL d'eau ultra-pure mesuré à l'éprouvette
- 8) Pour une analyse des lipides (chair de poisson), récupérer avec une pipette 3,0 mL de la phase heptane pour mesure gravimétrique (cf protocole infra)
- 9) Soutirer la phase aqueuse
- 10) Ajouter à la phase heptane dans l'ampoule à décanter, à l'aide d'une pro-pipette, 5 mL d'acide sulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré (18M - d=1,84)
- 11) Agiter pour détruire graisses et lipides en prenant soin de bien dégazer sous hotte (la réaction est très exothermique)
- 12) Laisser décanter jusqu'à obtenir deux phases sans émulsion ou interphase trouble (la phase organique doit être limpide et incolore) et soutirer la phase acide sulfurique
- 13) Transférer l'heptane par le col de l'ampoule dans la verrerie spécifique Turbovap
- 14) Concentrer à 1mL dans le Turbovap à 40°C, sous N<sub>2</sub>, pendant environ 20 minutes
- 15) Transvaser l'heptane avec une pipette pasteur dans une seringue verre munie d'un filtre PTFE 0,2 µm. Récupérer dans un vial en verre de 8 mL. Boucher avec bouchon à face interne téflon et conserver au réfrigérateur (ou congélateur) pour analyse.
- 16) Le jour de l'analyse, ajouter 100 µL hexanol puis évaporer sous flux d'azote jusqu'à environ 100µL (3 gouttes).
- 17) Ajouter à la micropipette réglable un volume d'heptane égal à 450 µL
- 18) Séparer les 7 PCBi (28, 52, 101, 118, 138, 153, 180) par chromatographie en phase gazeuse (Clarus 580 Perkin Elmer) sur une colonne MACHEREY NAGEL Optima5 (30m - 0,25µm) : 60 mL/min ; rampe de 10°C/min jusqu'à 240°C, puis de 5°C/min jusqu'à 320°C, puis 320°C durant 5 min.
- 19) Identifier les congénères par leur temps de rétention et les quantifier avec un détecteur à spectrométrie de masse, avec étalonnage interne (PCB-116 d5).
- 20) La concentration en PCB dans la chair de poisson est donnée par :  
$$[\text{PCB}] \text{ en ng/g} = 30/27 \times ([\text{PCB}] \text{ (ng/mL heptane)}) / \text{mP (g)}$$

### *Mesure gravimétrique des lipides*

- 1) Prélever à la pipette exactement 3,0 mL de la phase heptane dans un vial sec de 8 mL préalablement pesé de masse mL1

- 2) Evaporer entièrement l'heptane sous courant d'azote jusqu'à masse constante mL2 (vérifier par 2 pesées successives)
- 3) La teneur en lipides des poissons est égale à  

$$\text{Teneur lipidique (\%)} = 100 \times 30/3 \times (\text{mL2}-\text{mL1}) / \text{mp}$$

#### Dosage pour les trois matrices

Le dosage s'effectue en analyse GCMS en mode SIR

- Evaporer sous azote
- Reprendre résidu par 100µL d'heptane
- Analyse GCMS en mode SIR

#### **Résultats des dosages dans les différents compartiments biologiques**

##### \*Filets

Le dosage dans les filets de géniteurs mâles contaminés est significativement différent en fonction de la dose injectée ( $p<0,05$ ). Les concentrations moyennes sont de  $3,6 \pm 0,1$  ngPCB/g pour les mâles injectés uniquement avec de l'huile d'arachide, de  $50,4 \pm 8,5$  ngPCB/g pour les mâles injectés avec une dose d'Aroclor1254 à 500ng/g et  $173,4 \pm 8,5$  ngPCB/g de PCB pour les mâles injectés avec un mélange d'Aroclor1254 à 1000 ng/g.

##### \*Sérum

Le dosage dans le sérum de géniteurs mâles contaminés est significativement différent en fonction de la dose injectée ( $p<0,05$ ). Pour les mâles injectés uniquement avec de l'huile d'arachide, nous ne retrouvons aucune trace de PCB. Pour les mâles injectés avec une dose de 500ng/g d'Aroclor1254, la concentration retrouvée est de  $3,4 \pm 0,7$  ngPCB/g et pour les mâles injectés avec un mélange d'Aroclor1254 à 1000 ng/g la concentration retrouvée est de  $17,0 \pm 3,4$  ngPCB/g.

##### \*Laitance

Pour le dosage dans la laitance, les résultats sont en cohérence avec ceux trouvés dans le sérum, ils sont proches de 0 pour les témoins ( $0,2 \pm 0,2$  ngPCB/g), puis ils augmentent pour les mâles contaminés à 500ng/g d'Aroclor1254 ( $0,6 \pm 0,4$  ngPCB/g) et pour les mâles contaminés à 1000 ng/g d'Aroclor1254 ( $3,3 \pm 0,6$  ngPCB/g).

*Tableau 1 : Teneur en PCB dans les mâles*

(N= 7 / conditionnements). Les données exprimées sont des moyennes  $\pm$  erreur-type. Les lettres représentent les différences statistiques significatives ( $p< 0,05$ ) obtenues par le test de Student.

Géniteurs mâles			
	Filets	Sérum	Laitance
<b>Témoin</b> (ng/g PCB)	3,5 ± 0,9 a	0 ± 0	0,2 ± 0,2a
<b>Moyenne</b> (ng/g PCB)	50,4 ± 8,5 b	3,4 ± 0,7a	0,6 ± 0,4b
<b>Forte</b> (ng/g PCB)	173,4 ± 8,5c	17,0 ± 3,4b	3,3 ± 0,6b

## Conclusion

Quelle que soit la matrice utilisée (filet, laitance et sérum), les niveaux de contaminations en PCB chez les mâles reflètent les doses initiales injectées. Les niveaux retrouvés sont variables entre les matrices ce qui est cohérent avec les résultats de la littérature. Monod et Keck (1982) montre une forte variabilité de la bioaccumulation des PCB en fonction des organes dosés. De plus, le mode d'injection utilisé lors de cette étude ne semble pas avoir, selon la littérature, d'impact sur l'accumulation des PCB. En effet, de nombreux auteurs ont montré que l'accumulation de PCB était similaire suite à une contamination orale ou par injection intrapéritonéale chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) (Andersson et al. 2000), la perchaude (*Perca flavescens*) et la truite arc-en-ciel (*Salmo gardei*) (Guiney & Peterson, 1980). Dans notre étude, les concentrations dans les filets et le sérum augmentent nettement en fonction de la dose de contamination en Arochlor. Les concentrations dans la laitance sont également en cohérence avec les valeurs mesurées dans le sérum.

Le sérum sanguin peut donc être utilisé pour doser les PCB sans sacrifice de l'animal. Néanmoins, le prélèvement nécessite un opérateur expérimenté. La laitance peut être prélevée facilement et rapidement. Elle permettrait d'apprécier uniquement le respect de la concentration réglementée par l'UE pour la consommation des poissons sauvages (i.e. 125 ng/g pour la somme des 6 PCBi) car les concentrations dans cette matrice sont inférieures à la limite de quantification pour des imprégnations musculaires inférieures à 125 ng/g. Des essais devront encore être réalisés avec un échantillon statistique important (a minima 11 géniteurs d'omble chevalier présentant une teneur musculaire en PCB supérieure au seuil

réglementé de 125 ngPCB/g et 11 géniteurs avec une teneur inférieure au seuil) et sur des géniteurs d'autres espèces piscicoles lacustres.

## **I.2 Effet seuil à partir duquel la contamination paternelle est sans impact sur la descendance**

Cette étude a mis en évidence un effet seuil, quelle que soit la température de l'eau (4,5°C ou 8,5°C), pour une contamination forte des pères à  $173,4 \pm 8,5$  ngPCB/g, sur les traits de vie mais pas sur la mortalité. On ne montre en effet pas d'impact de la contamination paternelle en PCB sur les taux de mortalité ( $70,2 \pm 0,1$  % à 4,5 °C, et  $48,1 \pm 0,2$  % à 8,5 °C sans contamination en PCB ;  $65,0 \pm 0,1$  % à 4,5 °C et  $43,9 \pm 0,7$  % à 8,5 °C pour une contamination moyenne ( $50,4 \pm 8,5$  ngPCB/g) ;  $64,1 \pm 0,3$  % à 4,5 °C et  $45,6 \pm 0,2$  % à 8,5 °C pour la contamination forte ( $173,4 \pm 8,5$  ngPCB/g)). En revanche, les traits de vie comme la croissance, les malformations, les enzymes de stress oxydatif et neuronal, l'anxiété, l'activité sont les plus négativement impactés par la contamination paternelle à  $173,4 \pm 8,5$  ngPCB/g. Ainsi, les larves issues de ces pères contaminés ont un fort taux de croissance, une forte agressivité et activité ainsi qu'une augmentation du stress oxydatif, qui engendrera certainement une augmentation du coût métabolique. Ces modifications de traits de vie, pourraient avoir un impact négatif en milieu naturel en diminuant la capacité des larves à échapper aux prédateurs, ou à prédate (et ainsi d'atteindre plus rapidement le Point de Non Retour pour lequel la larve meurt de faim).

## **I.3 Pratiques de repeuplement : ce livrable dépendra du précédent et permettra d'apporter un éclairage sur les pratiques de repeuplements (choix des géniteurs fonction du seuil) via des recommandations écrites transposables à d'autres espèces et écosystèmes aquatiques.**

Le présent projet a mis en évidence les impacts d'une transmission paternelle des PCB et leur conséquence sur leur descendants notamment pour les contaminations à  $173,4 \pm 8,5$  ngPCB/g. Néanmoins, il est difficile d'en connaître les conséquences précises sur le long terme et en milieu naturel, mais le principe de précaution doit s'appliquer.

### Impacts sur la descendance

- Le seuil de contamination paternelle  $173,4 \pm 8,5$  ngPCB/g a été montré dans cette étude comme impactant négativement les descendants et est en cohérence avec l'étude précédente menée sur les effets d'une transmission maternelle en PCB (Réalis-Doyelle et al. 2023). Même si les taux de survie sont élevés à cette contamination, la hausse des malformations, l'hyperactivité et la

diminution d'anxiété des larves pourraient les rendre plus vulnérables à la prédatation en milieu naturel.

- Un impact de cette transmission paternelle pourrait être plus important *in vivo* pour les descendants en raison de leur imprégnation ultérieure possible dans le milieu (par voie tégumentaire, branchique ou gastro-intestinale), s'ajoutant aux effets liés à la contamination paternelle.

#### Dosage dans les différentes matrices

- Le sérum sanguin peut être utilisé pour doser les PCB sans sacrifice de l'animal néanmoins, le prélèvement nécessite un opérateur expérimenté.
- La laitance peut être prélevée facilement et rapidement. Toutefois les concentrations mesurées sont proches de la limite de quantification de la technique analytique, dès que la teneur musculaire en PCB est inférieure à 100 ngPCB/g. Cette matrice simple à récolter permettrait toutefois d'apprécier le respect de la concentration réglementée par l'UE pour la consommation des poissons sauvages (i.e. 125 ng/g pour la somme des 6 PCB). Des essais devront encore être réalisés avec un échantillon statistique plus important (a minima 11 géniteurs d'Omble Chevalier présentant une teneur musculaire en PCB supérieure au seuil réglementé de 125 ngPCB/g et 11 géniteurs avec une teneur inférieure au seuil) et sur des géniteurs d'autres espèces piscicoles lacustres.

## Résumé

La fin du 20<sup>ème</sup> siècle se caractérise par des modifications rapides des écosystèmes aquatiques sous l'effet des activités humaines via l'accroissement de stress multiples. Parmi eux, les polluants organiques persistants (POP) sont des xénobiotiques dont la toxicité est reconnue chez de nombreux animaux. En outre, dans le contexte actuel de changement climatique, les variations de température des masses d'eau pourraient avoir des conséquences indirectes sur la bio-disponibilité de ces toxiques. Les polychlorobiphényles (PCB) sont par exemple efficacement bioaccumulés par la faune aquatique et particulièrement les poissons, en raison de leur caractère lipophile et de leur faible dégradation. Les effets toxiques sur l'Homme, consommateur de poissons sauvages, sont de mieux en mieux renseignés, sans qu'ils ne soient bien évalués chez le poisson.

L'étude présentée dans ce document vise à tester les effets de la température et des PCB sur l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*), un salmonidé sténotherme froid dont la population au sein du lac du Bourget reste à un niveau bas depuis une dizaine d'années malgré des efforts de repeuplement et une amélioration de la qualité des eaux, alors que les modélisations thermiques de Kelly & al. 2020 ne montrent pas d'impacts directs des hausses de températures sur les populations d'omble chevalier des lacs pétialpins pour le prochain demi-siècle. L'hypothèse testée ici est que les effets des PCB sur les premiers stades de vie de cette espèce impactent la survie des jeunes. Une étude précédente (Réalis-Doyelle et al. 2023) sur les effets d'une transmission maternelle des PCB, couplée à une hausse de température, a montré un effondrement de la survie des descendants ainsi que des atteintes morpho-anatomiques, des altérations du comportement et une élévation des enzymes de stress chez *Salvelinus alpinus*. L'effet d'une contamination paternelle en PCB, couplée à une hausse de température, a donc été étudiée pour compléter la première étude. Des géniteurs mâles ont été contaminés par injection intraperitoneale de PCB à trois niveaux de concentration, un mois avant la ponte. Chaque mâle a fécondé un pool d'ovocytes de 12 femelles non contaminées en PCB. Chaque ponte fécondée a été séparée en deux et incubée à 4,5°C (température optimale de développement embryonnaire) et 8,5°C (température prévue par le modèle RCP8.5 GIEC et limite de tolérance de l'embryon de l'omble chevalier). Les résultats ne montrent pas d'effondrement de la population (~50% de survie), en contraste avec l'étude de contamination maternelle (~12% de survie). Un effet synergique de la contamination en PCB et de l'élévation de température est observé sur le taux de croissance, les malformations, le stress oxydatif et neuronal. Un effet additif PCB-température est statistiquement prouvé sur l'activité des larves. Les PCB ont un effet sur l'anxiété. La hausse de température impacte le taux de survie, le temps de développement, l'efficacité d'utilisation de la réserve vitelline et l'agressivité des larves.

Cette étude montre un impact négatif de la transmission paternelle de PCB couplée à une hausse de température sur les premiers stades de vie de *Salvelinus alpinus*, toutefois moins important que l'effet de la transmission maternelle des PCB couplée à une hausse de température. Les effets additifs PCB-température pour les descendants issus des femelles contaminées sont observés sur plus de paramètres, et notamment pour la survie.

Ces travaux ont également permis de proposer des méthodes de dosage des PCB dans différentes matrices biologiques du poisson adulte (sang, laitance et muscle). Le dosage des PCB dans la laitance des géniteurs-mâles pourrait permettre d'évaluer le respect de la valeur réglementée par l'UE (125 ng6PCBi/g) dans la chair de poissons sauvages par une technique non-invasive préservant la vie des individus.



## II. Contexte général

La fin du 20<sup>ème</sup> siècle se caractérise par l'émergence d'une modification des écosystèmes sous l'effet des activités humaines via l'accroissement de stress physiques (expositions à des polluants, baisse du niveau d'oxygène, mauvaise qualité de l'eau) (Barton 2002). La question se pose de la capacité d'adaptation des espèces à faire face à ces multiples modifications dans un laps de temps aussi court (Williams et al. 2007). Les organismes vont donc devoir modifier leur phénotype en réponse à ces changements (Bijleveld et al. 2014). La théorie des POLS « pace-of-life syndrome » (Réale et al. 2010) suggère une co-variation entre de nombreux traits de vie regroupés sous le nom de syndrome (Réale et al. 2010) (Figure I-1).



Figure II-1 : Variations des traits physiologiques et comportementaux en fonction des stratégies biodémographiques et des rythmes de vie d'après le syndrome des rythmes de vie. D'après Réale et al. (2010).

Réale et al. (2007) suggère ainsi une co-variation entre des traits d'histoire de vie définis par trois catégories (stratégie biodémographique, comportement et physiologie) dans un environnement défini suivant un continuum de rythme de vie rapide / lent. En effet, si l'environnement venait à changer, l'ensemble de ces traits de vie serait modifié suivant une même trajectoire (Goulet et al. 2017). Ainsi, une accélération du métabolisme liée à une hausse de la température conduisant à l'augmentation des mécanismes de détoxicification pourrait affecter l'ensemble des traits de vie (Réale et al., 2010) et façonne la sensibilité aux contaminants (Dinh Van et al. 2014 ; Baas & Kooijman, 2015). Une telle co-variation multi-caractères est souvent supposée adaptative et susceptible de répondre à des pressions sélectives (Peiman & Robinson, 2017 ; Wright et al. 2019). Ainsi, les individus audacieux et plus

agressifs devraient se développer plus rapidement et mourir plus jeunes que les individus plus timides et moins agressifs (Damsgard et al. 2019). Ce type de corrélation de traits comportementaux est bien établi dans le concept de « styles d'adaptation » (*Copy style*) au stress, décrit comme une suite de comportements corrélés entre eux et aux réponses physiologiques en fonction du temps et du contexte (Koolhaas et al. 1999). Face à un stress, la réponse de l'individu peut être plus ou moins active (proactif) ou passive (réactif) (Damsgard et al. 2019). Classiquement, deux profils comportementaux d'individu sont observés en fonction de leurs réponses face à la situation stressante afin de maintenir l'homéostasie : les proactifs ont une réponse de type « combat/fuite » (*fight/flight* ; Cannon, 1915) présentant des comportements territoriaux et agressifs, alors que les réactifs ont une réponse de type « immobile/cachée » (*freeze/hide* ; Engel & Schmâle, 1972)) avec des comportements d'immobilité et de faibles niveaux d'agressivité (Koolhaas et al. 1999 ; Castanheira et al. 2015). Les individus proactifs auront donc une faible réactivité de l'axe HPI (Øverli et al. 2007 ; Silva et al. 2010), ainsi qu'une faible réactivité des systèmes monoaminergiques (Øverli et al. 2001, 2007) et une plasticité neuronale plus faible comparée aux individus réactifs (Øverli & Sorensen, 2016). Néanmoins, il est important de noter que dans des populations naturelles ou expérimentales, la plupart des réponses individuelles au stress sont comprises entre ces deux réponses extrêmes.

En outre, les impacts de l'environnement sur l'évolution des syndromes (associations de traits de vie covariants) peuvent même s'étendre au-delà de son état actuel jusqu'aux stades ou générations ontogénétiques qui s'ensuivent (Reale et al. 2007). L'exposition au stress au début de la vie peut avoir des effets tout au long de la vie d'un organisme. Ces effets peuvent être nuisibles ou adaptatifs s'ils permettent à l'organisme de développer un phénotype adulte le plus adapté à l'environnement prédict par le facteur de stress (Lyn Fjellner, 2020). En effet, les effets à long terme de l'exposition au stress au début de la vie pré et postnatale peuvent augmenter les hormones glucocorticoïdes et influencer la réponse au stress à l'âge adulte (Monaghan & Haussmann, 2015). Les hormones impliquées dans les voies du stress jouent un rôle important dans la gestion de l'énergie homéostatique et ont été proposées comme étant le mécanisme par lequel la progéniture est informée de l'environnement postnatal (Marshall & Uller, 2007 ; Sheriff & Love, 2013). De plus, l'homéostasie est régulée par un système complexe de systèmes comportementaux et physiologiques au sein d'un organisme pour maintenir un fonctionnement optimal (Romero et al. 2009). Les individus qui sont exposés au stress tôt dans la vie peuvent avoir des changements phénotypiques dans leur comportement et leur style d'adaptation au stress (*Copy style*) (Lyn Fjellner, 2020). Néanmoins, l'exposition prénatale aux hormones de stress peut également avoir des effets négatifs en inhibant une réponse de fuite face à un prédateur chez la génération F1 chez les épinoches à trois épines (*Gasterosteus aculeatus*) (McGhee et al. 2012). Il existe également de plus en plus de preuves de la transmission transgénérationnelle d'effets non génétiques qui influencent l'expression phénotypique de la progéniture dans des traits covariants tels que la croissance, la personnalité et la fécondité (McCormick, 2009).

Parmi les facteurs de stress, la température est particulièrement étudiée sur les premiers stades

de vie en raison de leur forte sensibilité aux variations de température (Pörtner & Peck, 2010 ; Réalis-Doyelle et al. 2016) en raison notamment de leur capacité homéostatique immature (Urho, 2002). Cette sensibilité aura de nombreuses répercussions sur leur capacité de survie, de croissance, des malformations, leur métabolisme et leur immunité (Treasurer, 1983 ; Pepin et al. 1997 ; Kihara et al. 2002 ; Sfakianakis et al. 2006 ; Bustos et al. 2007 ; Löffler et al. 2008 ; Schultz & Bonar, 2009 ; Barron et al. 2012 ; Lahnsteiner & Mansour, 2012 ; Kurokawa et al. 2013 ; Linares-Casenave et al. 2013 ; Meeuwig et al. 2013 ; Réalis-Doyelle et al. 2016) et peut entraîner des altérations morphométriques et comportementales (Colchen et al. 2016). De surcroit, une augmentation de la température entraîne également l'induction des systèmes de défense contre le stress thermique comme les Heat Shock Protein (HSP) ou les enzymes antioxydantes (SOD, CAT...), ce qui entraîne un coût métabolique supplémentaire (Gandar, 2015 ; Viant et al. 2003).

En parallèle de ce stress principal, les pressions globales et locales liées aux polluants sont croissantes. Dans les années 80, les polychlorobiphényles (PCB), des hydrocarbures aromatiques chlorés synthétiques ininflammables, hydrophobes et chimiquement stables, ont été interdits, alors que la production mondiale était estimée à plus de 1,5 millions de tonnes (Breivik et al. 2002). En raison de leur utilisation industrielle intensive et de leur stabilité chimique, les PCB se sont accumulés dans l'environnement et le biote. Leur haute lipophilie et leur stabilité environnementale leurs ont permis de persister dans l'environnement pendant de longues périodes, résultant en une large distribution géographique. De plus, cette haute lipophilie (Jones & de Voogt, 1999) a pour conséquence leur bio-accumulation dans les tissus et organes riches en graisse ainsi que dans les organes de détoxicification comme le foie (Nfon & Cousins, 2006 ; Fisk et al. 2001 ; Letcher et al. 2010 ; Daouk, 2011). Les PCB vont être ainsi bioamplifiés le long de la chaîne trophique (Borgå et al. 2001 ; Daouk, 2011). Cette bioamplification dépend des congénères (209 congénères de PCBs), de l'espèce cible et de l'organe considéré (Fisk et al. 2001 ; Nfon & Cousins, 2006 ; Letcher et al. 2010 ; Daouk, 2011). De plus, une hausse de température pourrait avoir des effets indirects sur leur biodisponibilité par une amplification de leur dégradation et de leur volatilisation pouvant avoir pour conséquence une augmentation de leur concentration, notamment dans les écosystèmes aquatiques (Ma et al. 2011). Cette augmentation pourrait accroître la productivité primaire et donc l'augmentation du carbone organique particulaire (COP) et avoir pour conséquence de diluer les PCB dans le milieu (Borgå et al. 2010) ou d'augmenter leur concentration, en raison de leur adsorption sur les COP de petites tailles. De nombreux effets des PCB sur les poissons sont décrits comme des altérations : de l'intégrité génétique (cassure des doubles brins d'ADN) (Marabini et al. 2011), de l'osmorégulation et de l'iono-régulation (Lawrence & Hemingway, 2003), du système immunitaire (Lawrence & Hemingway, 2003), des fonctions hépatiques (Celander & Förlin, 1995 ; Örn et al. 1997) et rénales (Blom & Förlin, 1997 ; Quabius et al. 1997), du système endocrinien (Buckman et al. 2007 ; Lyche et al. 2010). Des perturbations ont également été décrites sur les grandes fonctions physiologiques comme la reproduction, la croissance (Bengtsson, 1980 ; Örn et al., 1997 ; Lyche et al. 2010) et la nutrition (Lawrence & Hemingway, 2003).

Ces atteintes ont également été décrites lors de stades de développement particuliers comme le stade embryonnaire avec des modifications morphogénétiques dues à une mauvaise orientation des cellules durant le stade gastrula, une mauvaise fusion des tissus, des effets sur les hormones et facteurs de croissance, un dérèglement de l'apoptose, un accroissement des anomalies, des effets mutagéniques (Lawrence & Hemingway, 2003). Cette exposition peut également entraîner une diminution de la survie des larves (Horri, 2018), des altérations physiologiques et comportementales (Péan et al. 2013), des variations d'expression des transcrits (cfos : transcrits de croissance) et des méthylations d'ADN (dnmt : marqueurs de methylation ADN) chez la descendance (Alfonso, 2018). Des modifications du comportement larvaire ont également été reportées par Pean et al. (2012) chez les larves de poisson zèbre (*Danio rerio*), notant des troubles du comportement proche du syndrome d'hyperactivité et trouble de l'attention (TDAH) décrit chez l'humain. Une étude précédente menée au laboratoire CARRTEL sur l'effet de la transmission maternelle d'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) des PCB couplée à une hausse de température montre des impacts potentialisateurs de la température et de la contamination maternelle en PCB sur de nombreux paramètres biogéographique, physiologiques et comportementaux (Réalis-Doyelle et al., 2023). Cette étude a montré que l'ensemble de ces effets sont fortement dépendants du stade de développement. En s'appuyant sur les théories des *copy style* et des POLS, il a été mis en évidence un continuum dans les traits de vie pouvant refléter une potentielle adaptation physiologique et comportementale à ce stress simultané. La plupart des études ont été réalisées sur des poissons modèles (zebra fish, medaka) et très peu d'études portent sur la transmission paternelle (Alfonso, 2018). L'étude de Cossu et al. (1997) sur des mollusques, montrent une activation du stress oxydatif (CAT, SOD) lié aux PCB lors d'une transmission parentale. En outre, très peu d'étude sont réalisées sur la transmission paternelle des impacts de polluants sur les premiers stades de vie. En effet la majorité des études se focalisent sur l'impact sur la fertilité des mâles (Cordier et al., 2008).

Si les effets du stress thermique sont particulièrement étudiés depuis cinquante ans, l'étude de l'interaction entre un stress thermique et chimique est plus récente (Gandar, 2015). Ainsi, dans la littérature, nous pouvons retrouver différents effets de cette combinaison : soit des effets antagonistes ( $1 + 1 = 1$ ), soit additifs ( $2 + 3 = 5$  pas d'interraction entre les deux), synergiques ( $2 + 3 > 5$ ), ou potentialisateurs ( $0 + 5 > 5$ ), (Jackson et al. 2015). Plusieurs études montrent qu'une exposition à des polluants est susceptible de diminuer la tolérance thermique des poissons et ainsi accentuer les effets des stress combinés (Sander & Martin, 1994 ; Patra et al. 2007 ; Lapointe et al. 2011 ; Lavergne et al. 2015) (Figure I 2).

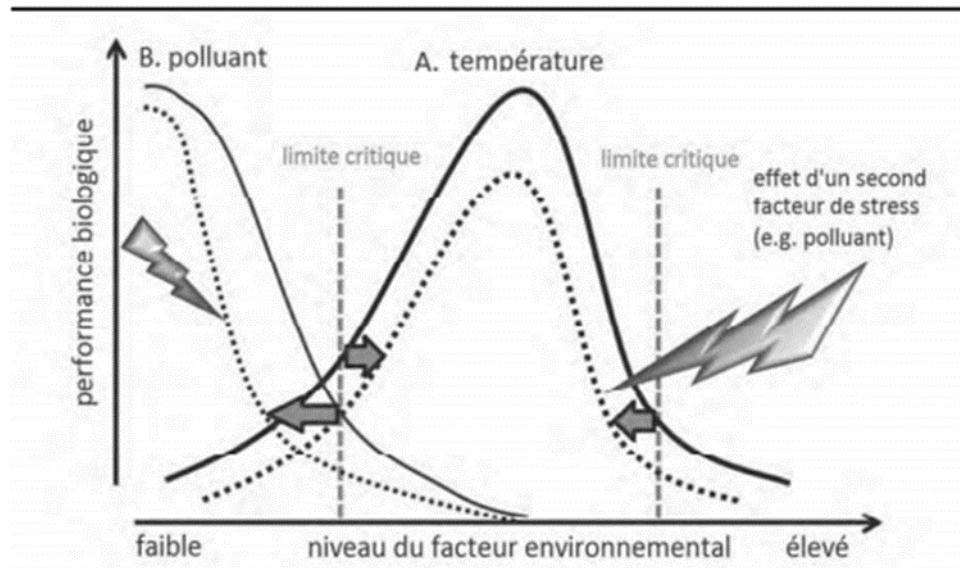


Figure II-2 : Effets croisés de la température et des polluants sur la performance biologique des organismes sur la tolérance aux stress (Gandar, 2015 adapté de Sokolova et al. 2012).

Lignes pleines ; effet des stress individuels sur la performance des organismes.

Lignes pointillés noirs : modification de la performance biologique sous l'effet d'un deuxième facteur de stress.

(A) La performance des organismes est maximale à l'optimum thermique puis décroît lorsque la température s'éloigne de l'optimum. Aux températures critiques (lignes en pointillées), le temps de survie de l'organisme est limité. Lorsque les organismes sont soumis à un deuxième facteur de stress qui augmente la demande énergétique, la capacité métabolique aérobie diminue, entraînant une diminution de la performance biologique des organismes. La gamme de tolérance à la température se restreint et les limites critiques sont atteintes plus rapidement (flèches).

(B) Lorsque la concentration en polluant augmente, la performance biologique des organismes diminue. Si les organismes sont également soumis à un stress thermique augmentant la demande énergétique, la performance des organismes diminue rapidement et la limite critique est atteinte à une concentration en polluants plus faibles (grosse flèche).

Parmi les espèces en péril, l'omble chevalier, un salmonidé d'eau froide a une importance patrimoniale, culturelle et économique dans toute l'Amérique du Nord et en Europe (Klemetsen et al. 2003 ; Winfield et al. 2018), en particulier dans les grands lacs péri-alpins (Caudron et al. 2014). Son aire de répartition est boréale circumpolaire, mais il est également retrouvé dans les régions tempérées de l'Holarctique, dont les lacs alpins et préalpins des Alpes (Klemetsen et al. 2003), qui se situent dans la limite sud de son aire de répartition. L'omble chevalier est une espèce sentinelle de la qualité des lacs alpins et préalpins (Zick et al. 2007) et d'intérêt pour l'étude des changements de température (Caudron et al. 2014 ; Kelly et al. 2021). De plus, l'omble chevalier est classé « sur la liste rouge » dans France par l'IUCN. En effet, la population d'omble chevalier a connu une forte augmentation de sa population au début du 20<sup>ème</sup> siècle avant de connaître une diminution depuis les années 1990 au sein du lac du

Bourget (Caudron et al. 2014 ; Guillard et al. 2015), malgré une politique de repeuplement avec des individus issus du lac et une amélioration de la qualité de l'eau (Guillard et al. 2015) (Figure I 3).

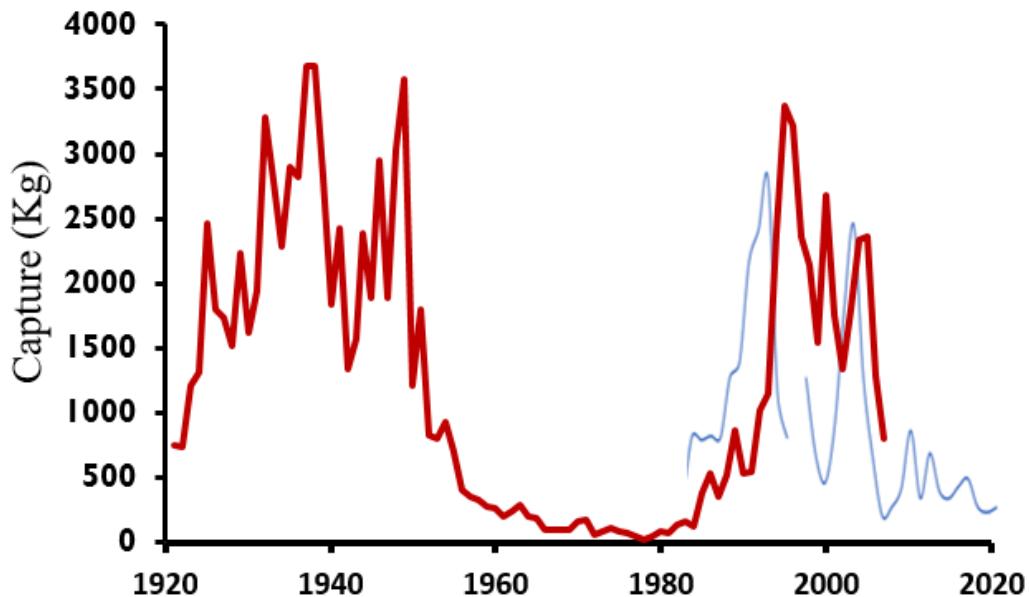


Figure II-3 : Évolution des statistiques de pêche (pêche professionnelle) pour l'omble chevalier (*Salvelinus alpinus*) (Guillard et al. 2015). Arrêt des comptages de la pêche professionnelle en 2011 en raison de l'interdiction de commercialisation de l'omble chevalier. La courbe rouge représente les captures issues de la pêche professionnelle et la courbe bleue les captures de la pêche amateur.

Dans ce contexte de multi-stress, les objectifs de ce projet sont :

- 1- Analyser le seuil de contamination paternelle pour lequel l'effet sur les descendants ne serait pas impactant. Ces résultats seraient particulièrement intéressants pour les pratiques de repeuplement pour le choix des géniteurs mâles afin de maximiser la survie des descendants.
- 2- Comprendre et quantifier la transmission paternelle des effets des PCB couplée à une variation de température.
- 3- Ces analyses nous permettront d'évaluer le potentiel synergique de ces deux stress sur une espèce sentinelle dont les réponses pourraient être généralisable à d'autres espèces.

### **III. Matériaux et méthodes**

#### **III.1 Les poissons**

Cette étude a été réalisée dans le strict respect des recommandations contenues dans le Guide de soin et d'utilisation des animaux de laboratoire et de la législation française [sur l'expérimentation animale] (numéro d'autorisation de projet : APAFIS #35464-2021102209386399 v3 ; numéro établissement C743004). Le protocole a été approuvé par le Comité d'éthique de l'expérimentation animale CECCAPP (Directive 499 2010/63/UE). Tous les efforts ont été faits pour minimiser la souffrance.

L'âge moyen des géniteurs était de cinq ans. Vingt et un mâles d'omble chevalier provenaient de la structure expérimentale de Thonon-les-Bains (UMR-INRAE CARRTEL l'ISC OLA et l'IR OLA AnnaEE-F) ( $1,1 \pm 1,2$  kg et  $40,1 \pm 1,1$  cm) et quinze femelles ( $3,7 \pm 0,9$  kg et  $42,4 \pm 1,7$  cm) provenaient de l'APPMA (association agréée de pêche et de protection des milieux aquatiques) d'Annecy. Les variables de qualité de l'eau ont été surveillées chaque semaine (ammoniac, nitrates et oxygène dissous (OD)) pour l'ensemble de l'expérimentation (acclimatation et expérimentation). Ces variables n'ont pas changé significativement au cours de la période expérimentale. Les mâles ont reçu des injections de PCB sous anesthésie à la benzocaïne (0,33 g/L) suivant 3 modalités (Table 1). Ainsi, sept mâles avec 1000 ng/kg, sept mâles avec 500 ng/kg et sept mâles avec 0 ng/kg (excipient) de PCB par kilogramme de masse corporelle dissous dans de l'huile d'arachide (excipient). Les PCB injectés sont un mélange Aroclor 124 communément utilisé pour ce type d'étude. Après l'injection, les mâles ont été séparés en trois groupes de même contamination afin de ne pas avoir de contamination croisé par les fèces entre des individus contaminés avec des doses différentes.

Tableau 2 : Dispositif expérimental pour les mâles ayant reçu une seule injection intrapéritonéale de PCB (Aroclor@ 124), un mois avant la ponte

Modalités d'injection	Doses des PCB injectés
Control	0 ng PCB / g
modérée	500 ng PCB /g
Forte	1 000 ng PCB /g

Les laitances ont été obtenues un mois plus tard après stripping sous anesthésie à la benzocaïne (0,33 g/L). Les laitances de chaque mâle ont fécondé un pool d'ovocytes de quinze femelles. Ensuite, chaque ponte a été divisée en deux parts égales et chaque partie a été incubée à une température différente (4,5 °C et 8,5 °C).

Les pontes ont été incubées dans six systèmes de recirculation d'eau indépendante (incubateurs) placés dans deux chambres thermostatisques (Figure II 1). Chaque chambre thermostatische a été assignée au hasard aux deux températures expérimentales : 4,5 °C et 8,5 °C sur la base du scénario de réchauffement climatique selon SSP5-8.5 sur GIEC 2021.

Au cours de cette étude, nous avons réalisé 6 conditionnements :

- Développement à température optimale de croissance embryo-larvaire (4,5 °C) et non contaminé en PCB
- Développement à température optimale de croissance embryo larvaire et avec une contamination paternelle à 500 ng/g de PCB.
- Développement à température optimale de croissance embryo larvaire et avec une contamination paternelle à 1000 ng/g de PCB.

Au cours de l'expérience, les œufs morts, les alevins morts, les aliments non consommés et les matières fécales ont été retirés une fois par jour. Des granulés (200 µm) ont été donnés aux alevins dès la phase d'alimentation mixte (alimentation sur réserve vitelline et exogène), deux fois par jour et la granulométrie a été progressivement ajustée en fonction de la taille des poissons et des instructions du fabricant (Le Gouessant, gibier Neo supra S en France, AL1 (granulé de 0,3 à 0,5 mm, composition : poisson, protéines végétales, céréales) et AL2 (granulé de 0,5 à 0,8 mm, composition : poisson, protéines végétales, céréales).

### **III.2 Les installations**

Chaque incubateur a un débit de  $4 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$  et l'eau a été stérilisée en continu aux UV. Chaque incubateur contenait sept racks séparés (Figure II 1). Ces installations étaient conformes à la législation française et avaient le numéro d'agrément E74 300-4. La photopériode a été contrôlée et est restée à 16 heures de lumière/ 8 heures d'obscurité par jour (16L/8D) pendant toute la durée de l'expérience. La température a été contrôlée quotidiennement (précision de la sonde manuelle ODEON  $\pm 0,2$  °C) et enregistrée en continue (capteur Minidot, précision  $\pm 0,1$  °C) dans chaque incubateur, ainsi que l'oxygène dissous qui est resté supérieur à  $\pm 90$  %.

La qualité de l'eau (ammoniac, nitrite et pH) a été contrôlée deux fois par semaine. L'ammoniac total et les concentrations de nitrite dans chaque incubateur ont été maintenus en dessous de 0,05 et 0,01 mg L $^{-1}$  respectivement et le pH est resté à  $8 \pm 0,5$ .



*Figure III-1 : Photographies des chambres thermo statées contenant les dispositifs expérimentaux. a) vue de l'extérieur, b) Vue de l'intérieur avec un incubateur et ses racks recouvertes de structures opacifiantes nécessaire à l'élevage embryo-larvaire.*

### III.3 Dosage des PCB

Les PCB ont été dosés dans le filet des géniteurs (femelles et mâles) par chromatographie en phase gazeuse (Clarus 580 Perkin Elmer) sur une colonne Optima5 (réalisé par le laboratoire EDYTEM partenaire du projet).

Chez les mâles, ce dosage a pour but d'évaluer la dose qui a été bioaccumulée par ceux-ci, mais également de pouvoir comparer la bioaccumulation entre les individus, qui pourrait conduire à une différence interindividuelle entre les mâles.

De plus, le dosage des PCB a été réalisé dans le sérum, le filet et la laitance.

### III.4 Stades biologiques

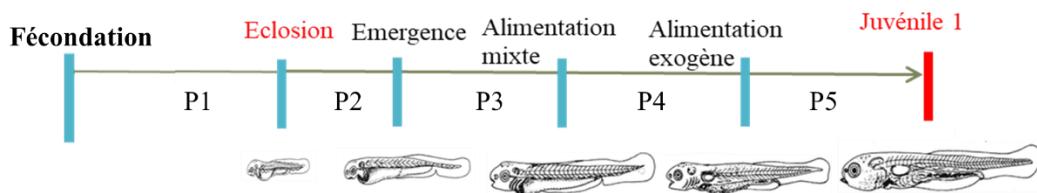
Cinq stades biologiques ont été étudiés (Figure II 2).

- L'éclosion (H) a été déterminée lorsqu'au moins 50 % des alevins quittent le chorion (membrane qui entoure l'amnios et le sac vitellin).
- L'émergence (EM) comme le moment où au moins 50 % des alevins ont une activité natatoire dans la colonne d'eau.
- L'alimentation mixte (MF) lorsqu'au moins 50 % des alevins ont commencé à se nourrir de manière exogène, mais la réserve vitelline n'est pas encore résorbée.
- L'alimentation exogène (EF) lorsqu'au moins 50 % des alevins ont consommé entièrement leur réserve vitelline.
- Le stade juvénile (J1) lorsqu'au moins 50 % des alevins ont une morphologie adulte.

Nous pouvons associer 5 périodes de développement entre ces stades biologiques : P1 : allant de la

fécondation au stade de l'éclosion, P2 : de l'éclosion à au stade d'émergence, P3 de l'émergence au stade d'alimentation mixte, P4 de l'alimentation mixte au stade d'alimentation exogène et P5 de l'alimentation exogène au stade juvénile 1.

Pour chaque stade de l'éclosion au stade P5, 30 spécimens ont été isolés individuellement pour chaque femelle et par température dans des mini clayettes de 5 X 5 cm pour l'estimation des performances de croissance et pour l'ensemble des analyses (stress).



*Figure III-2: Schéma des stades biologiques étudiés et des stades associés de développement (P1 = fécondation – éclosion ; P2 = éclosion – émergence ; P3 = émergence – alimentation mixte ; P4 = alimentation mixte – alimentation exogène et P5= alimentation exogène – juvénile 1). (dessin ; Vernier, 1969).*

Pour l'ensemble des prélèvements réalisés, tous les individus ont été mis à mort par balnéation médicamenteuse par une surdose d'anesthésiant de benzocaïne à 300 ppm (Vijayan et al., 2006).

### III.5 Paramètres Bio-démographiques

#### III.5.1 Temps de développement

La durée totale de développement pour chaque température et contamination paternelle en PCB a été calculée en fin d'expérimentation comme le nombre de jours entre la fécondation et le stade juvénile. Le taux de développement en degrés-jours accumulés (ADD) a été calculé entre la fécondation et le stade juvénile 1.

ADD = température moyenne quotidienne X nombre de jours entre la fécondation et le stade juvénile 1.

La durée relative de développement (RT) a été calculée entre deux étapes (en jours) comme le pourcentage de temps passé entre ces étapes sur le temps global de développement

RT= (nombre de jours entre les deux étapes X100) / la durée totale de développement (jours).

#### III.5.2 Taux de survie

Les œufs non fécondés n'ont pas été pris en compte dans le calcul du taux de survie, ils ont été retirés de l'analyse. Ce nombre d'ovules non fécondés étaient de  $15 \pm 5$  par ponte, il n'y avait pas de différence significative entre les traitements. Les œufs non fécondés ont été facilement identifiés car ils sont devenus blancs, opaques et vides (en 24 h) (Milla et al. 2011), alors que les œufs fécondés étaient

transparents.

Les œufs et les larves morts ont été retirés quotidiennement afin de calculer le taux de survie.

Le taux de mortalité (MR) entre chaque stade a été calculé pour chaque température et contamination en PCB (de la fécondation au stade juvénile 1) comme suit :

$MR = 100 - (\text{Nombre de morts cumulés entre deux stades biologiques} \times 100) / \text{Nombre d'œufs fécondés à l'étape de fécondation.}$

### ***III.5.3 Données morphologiques***

Les alevins ont été photographiés et mesurés avec le logiciel imaje@J (<http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>).

Ainsi, la longueur totale (TL) a été mesurée comme la distance entre l'extrémité de la bouche et le bout de la queue et le volume du sac vitellin a également été mesuré.

Toutes les mesures ( $n = 30$  alevins par mâle/température/contamination) ont été effectuées sur des alevins bien formés avec une précision de 0,01 cm.

### ***III.5.4 Taux de croissance spécifique***

Trois paramètres de performances métaboliques ont été calculés :

Le taux de croissance spécifique (TCS) en utilisant la longueur totale (TL) et l'efficience d'utilisation de la réserve vitelline (EUV).

$TCS = ((\ln(\text{TL à Jf}) - \ln(\text{TL à Ji})) \times 100) / (\text{Jf} - \text{Ji})$  (Trabelski, 2012)

Ou J : jour, i : initial et f: final.  $\ln$  = logarithme népérien.

### ***III.5.5 Taux de malformations***

Les larves ont été classées comme bien formées ou mal formées. Les observations ont été réalisées sous la caméra Nikon (Appareil photo Nikon D5300 ; Zoom Sigma 105 mm F2.8 EX DG macro 06) sur 30 larves individualisées à partir de l'éclosion par père/température/ contamination à la fin de chaque stade biologique.

Les larves mal formées sont identifiées comme celles présentant des malformations visibles, notamment des malformations de la colonne vertébrale (scoliose, cyphose et lordose), de la tête (mâchoire et œil) ou de la réserve vitelline (œdème) comme observé par d'autres auteurs (Afonso et al. 2000 ; Holm et al. 2005 ; Jezierska et al. 2009, Lahnsteiner 2012).

Le taux de malformation (MF) a été calculé comme suit :  $MF = (\text{Nombre de larves malformées au stade biologique défini} \times 100) / 30$ .

### **III.6 Paramètres comportementales**

Les analyses comportementales ont été effectuées au stade Juvénile 1 pour l'ensemble des conditionnements.

Pour l'ensemble des tests effectués, une acclimatation de 5 minutes est réalisée, puis les individus sont filmés 15 minutes pour chaque test à l'aide d'une caméra reliée au logiciel @ Lolitarck. Les séquences vidéo sont ensuite analysées via ce logiciel de tracking. L'ensemble des tests est effectué en triplicat/mâles pour chaque conditionnement avec des nouveaux individus.

L'ensemble des tests comportementaux ont été réalisés dans une arène circulaire (diamètre 30 cm et hauteur 10 cm avec eau 6 cm de profondeur). L'eau dans l'arène était la même pour chaque incubateur, elle était changée à chaque test coportementale afin de maintenir la température. Le fond de l'arène était translucide et allumé à 5-10 lux sur le côté pour éviter les ombres des larves pendant l'enregistrement (Figure II 4).



Figure III-3 : photographie du dispositif expérimentale en arène @François-Raphael Lubin

#### **III.6.1 Test d'agressivité interindividuel**

L'agressivité est définie généralement par le nombre d'interactions agonistiques d'un individu envers les autres (Réale et al. 2007). Ce test repose sur la quantification des interactions agonistiques (poursuite, attaque, comportement spécifique) d'un individu par rapport à d'autres (Verbeek et al. 1996 ; Bertucci et al. 2013). Cette analyse est réalisée sur un groupe de 6 individus

Nombre de contacts : (Nombre de contact X 100) / nombre de contact total

### ***III.6.2 Test d'activité***

6 individus par conditionnement ont été suivis, leur temps d'activité noté en deux catégories : nage statique et nage rapide.

La nage statique était définie par un coup de queue mais qui n'a pas propulsé les alevins au-delà de la longueur de leur corps pendant plus de 5 secondes (mouvement discontinu ou saccadé). La nage rapide a été définie comme un rapide déplacement des larves, de plus d'une longueur de son corps en moins de 5 secondes. Pour chaque larve, nous avons pris en compte la durée de chaque type de nage et la durée totale de l'activité de natation, puis nous avons calculé la proportion de chaque type de nage par rapport à la durée total de nage pour chaque conditionnement.

Ainsi, nous avons déterminé 3 types d'activité : nage saccadé < 5 secondes, nage rapide >5 secondes et l'inactivité quand la larve n'a pas eu d'activité natatoire.

Pourcentage d'activité : (temps du type d'activité X 100) / temps total

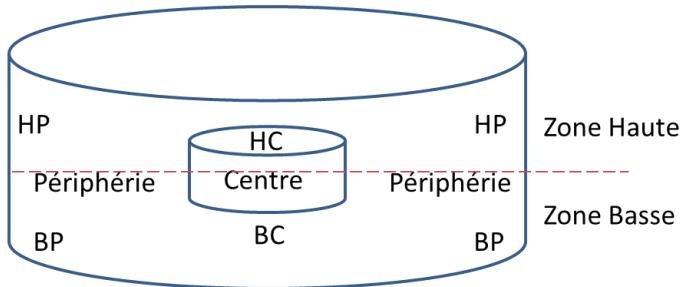
### ***III.6.3 Test d'anxiété***

L'anxiété est une caractéristique que l'on sait mesurer chez les téléostéens aussi bien pour les larves qu'aux stades ultérieurs (Levin et al. 2007 ; Egan et al. 2009 ; Schnorr et al. 2012) via le positionnement des poissons dans un nouvel environnement. Ainsi, la réponse première des individus consiste à s'immobiliser près du fond ou des bords, puis les individus explorent ensuite l'ensemble de l'environnement nouveau. Le positionnement près du fond ou des bords (thigmotaxie), loin de la surface, fait écho au comportement anti-prédateur très répandu chez les téléostéens (Marcucella & Abramson, 1978). Ainsi, des comportements consistant à rester près du fond ou des bords de l'aquarium ont pu être définis comme liés au niveau d'anxiété de l'individu (Alfonso, 2018). Dans notre test, 6 individus par conditions ont été testés et leur position dans l'arène a été notée comme suit (Figure II 4) :

- Centre de l'arène haut (HC)
- Centre de l'arène bas (BC)
- Périphérie de l'arène haut (HP)
- Périphérie de l'arène bas (BP)

Le pourcentage de temps passé par zone a pu être calculé :

Pourcentage de temps passé par zone : (temps passé dans la position dans l'arène X 100) / temps totale dans l'arène.



*Figure III-4 : Test d'anxiété. L'individu est placé seul dans un nouvel environnement. Le positionnement dans la zone en périphérie ou au centre est suivi (d'après Ferrari et al. 2014). Le positionnement dans la zone bases ou haute de l'arène est mesuré (d'après Egan et al. 2009).*

### III.7 Paramètres Physiologiques

#### III.7.1 Paramètres de performances physiologiques :

Deux types de calculs ont été réalisés : entre chaque stade biologique et en point final entre l'éclosion et le stade juvénile 1.

Les aires du corps (PC, mm) et de la réserve vitelline (PSV, mm) ont été calculées à l'aide du logiciel imaje@J. En se basant sur ces deux paramètres, d'autres variables ont été calculées :

- le volume de la réserve vitelline (VSV) selon la formule :  $VSV = \pi/6 \times LSV \times HSV^2$ . LSV = Largeur de la réserve vitelline et HSV= Hauteur de la réserve vitelline.

- l'efficience d'utilisation du vitellus a été calculé :  $EUV = (AC \text{ à } J_f - AC \text{ à } J_i) / (ASV \text{ à } J_f - ASV \text{ à } J_i)$

Où AC : aire du corps, ASV : aire du sac vitellin, J : jour, i : initial et f: final.

Deux types de calculs ont été réalisés, entre chaque stade biologique et en point final entre l'éclosion et le stade juvénile 1.

Toutes les mesures ( $n = 30$  alevins par père/température/contamination) ont été effectuées sur des alevins bien formés avec une précision de 0,01 cm.

#### III.7.2 Dosage des Stress

Des mesures des différents marqueurs de stress oxydatif (SOD), et neurologique (acétylcholinestérase) ont été réalisées.

Pour chacune de ces 3 analyses, 5 larves entières par conditionnement/femelles et par stades biologiques ( $5 \times 3 \times 5 = 75$  individus) ont été broyées individuellement dans un tampon d'extraction (tampon phosphate additionné de Triton à une concentration de 0,1 %), à un rapport de masse/volume de 1/10 grâce à des billes plastiques de 4 mm, puis ont été centrifugées 15 minutes à 9 000 rpm. Le surnageant a ensuite été prélevé et stocké à -80 °C.

### SOD

La superoxyde dismutase (SOD) est capable de transformer l'anion  $O_2^-$  en oxygène et en peroxyde d'hydrogène.

La mesure de l'activité enzymatique de la SOD a été réalisée après extraction : 20 µL de la solution étalon et 20 µL des échantillons ont été déposés en triplicata sur la microplaquette. A ces échantillons ont été ajoutés 175 µL de milieu réactionnel (composé de tampon phosphate, NADH, EDTA/MnCl<sub>2</sub>) et 20 µL d'une solution de β-mercaptopéthanol à 10 mM. Après 15 minutes d'incubation, les échantillons ont été passés dans le spectrophotomètre à 340 nm.

La pente a ensuite été calculée pour chaque échantillon et gamme étalon sur une zone linéaire de la courbe, puis le pourcentage d'inhibition a été calculé suivant la formule :

$$\text{Pourcentage d'inhibition} = ((\text{pente blanc} - \text{pente éch.}) / \text{pente blanc}) \times 100.$$

Déterminer l'équation de la courbe d'étalonnage SOD (U/mL) = f (% inhibition)

L'équation de la courbe a été déterminée suivant selon une relation log linéaire :

$\text{LN (SOD)} = a \times \% \text{ inhibition}$  ou par une relation polynomiale du deuxième degré :

$$\text{SOD} = a \times x^2 - b \times x \quad (x = \% \text{ inhib.}).$$

La formule permet de calculer l'activité SOD des échantillons en Unité commerciale par mL de prédilution (Noury, 2016).

### Acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme essentielle pour la transmission de l'influx nerveux au niveau de la transmission neuromusculaire, elle est donc liée à l'activité musculaire. Le rôle principal de l'AChE est de catalyser l'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide acétique au niveau des sites synaptiques cholinergiques.

Le dosage sur microplaquette de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase (AChE) a été réalisé. L'AChE dégrade l'acétylthiocholine (ATCi), ce qui conduit en la formation de thiocholine qui

réagit avec l'ion dithiobisnitrobenzoate (DTNB), pour former le 5-thio-2-nitroacide benzoïque (TNB) qui forme un complexe jaune. Après extraction, 330 µL de tampon phosphate 0,1M pH 7,8, 20 µL d'échantillon ou de solution étalon, 20 µL de DTNB et 10 µL de substrat ATCi ont été disposés en triplicatas dans chaque puits, sur microplaqué. La mesure de l'absorbance a ensuite été réalisée sur un spectrophotomètre à 405 nm. La pente de chaque cinétique (échantillons et étalon) (DO/min) a été calculée. L'activité AChE (nmol/min), qui correspond à la quantité de TNB produite par minute dans un puits est calculée avec la formule Activité AChE =  $d\text{DO} \times V \times \epsilon \times L = d\text{DO} \times 0,38 \times 0,0136 \times 1$  (avec  $d\text{DO}$  = pente de la courbe (DO/min),  $V$  = volume réactionnel,  $\epsilon$  = coefficient d'absorption molaire du TNB,  $L$  = trajet optique (cm)). L'AChE peut également être calculée en U/g poids frais, l'unité enzymatique AChE étant la quantité d'enzyme qui hydrolyse 1,0 µmol d'AChE/min. L'activité AchE en DO/min est convertie en U/puits avec la formule AChE (U/puits) = (AChE (DO/min)) /  $a$  ( $a$  = pente de la gamme étalon). Ensuite, pour 20 µL d'échantillon, on a : AChE (U/g frais) = (AChE (U/puits) / 2)  $\times 1000$  (Noury, 2016b).

## IV. Les analyses statistiques

### IV.1 Analyse globale des données

Pour tester la normalité des distributions, un test de Kolmogorov-Smirnov a été utilisé et l'homogénéité des variances a été testée à l'aide du test F de Levene. Dans toutes les analyses statistiques, la température, la contamination paternelle en PCB et le stade biologique étaient les facteurs testés.

L'analyse du dosage des PCB dans les ovules et les filets a été réalisée à l'aide d'un test t.

Une première analyse globale est effectuée pour évaluer les effets de la température et de son interaction avec la contamination paternelle en PCB sur le taux de survie, le temps de développement, le taux de malformation, les stress oxydatifs (SOD) et neuronaux (AChE), les paramètres de performances métaboliques (l'efficience d'utilisation de la réserve vitelline, le taux de croissance spécifique et le volume du sac vitellin) ainsi que les paramètres comportementaux : pour cela, un modèle linéaire généralisé (GLM) a été utilisé. Dans ce cas, la température et la contamination paternelle en PCB ont été spécifiées comme des effets fixes, tandis que l'identité de la femelle a été définie comme un effet aléatoire. Puis, une seconde analyse est effectuée en prenant en compte le stade pour les mêmes paramètres que précédemment via un modèle linéaire généralisé (GLM) ; dans ce cas, la température et la contamination paternelle en PCB et le stade biologique ont été spécifiés comme des effets fixes, tandis que l'identité de la femelle a été définie comme un effet aléatoire. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel @R v3.6.2 (R Development Core Team 2019). L'ensemble des résultats

ont été considérés comme significatifs au seuil de  $p < 0,05$ . L'analyse a été suivie d'un test post hoc de Tukey pour calculer les différences par paires entre les moyennes, lorsque l'interaction entre les facteurs était significative. Tous les paramètres ont été exprimés en moyenne  $\pm$  S.E.

## V. Résultats

### V.1 Dosage des PCB

#### Pour les larves

\*larves incubées à 4,5°C

Les résultats montrent des différences significatives entre les différentes contaminations ( $p < 0,05$ ). Les témoins montrent une contamination de  $0,6 \pm 0,8$  ngPCB/g, les larves issues de mâles injectés avec une dose de 500ng/g d'Arochlor1254 montrent une contamination de  $1,5 \pm 0,7$  ngPCB/g et pour larves issues de mâles injectés avec un mélange d'Arochlor1254 à 1000 ng/g la contamination retrouvée est de  $4,5 \pm 1,3$  ngPCB/g.

\*Larves incubées à 8,5°C

Nous pouvons observer une cohérence entre nos témoins pour les deux températures d'incubations ( $0,6 \pm 0,8$  ngPCB/g à 4,5°C et  $0,5 \pm 0,01$  ngPCB/g à 8,5°C).

Néanmoins, à 8,5°C pour les larves issues de mâles contaminés à 500 ng/g de PCB, nous ne mettons pas en évidence une hausse de contamination par rapport aux témoins, cela peut être en partie expliqué par la limite de quantification des PCB égale à 0,5 ngPCB/g. En revanche, nous pouvons observer une hausse significative de contamination aux PCB pour les larves issues de pères fortement contaminés ( $2,0 \pm 0,4$  ngPCB/g) mais qui reste significativement moins élevée que les descendants issus de ces mêmes pères et incubés à 4,5°C.

*Tableau 3 : Teneur en PCB dans les mâles et les larves (N= 7 / conditionnements). Les données exprimées sont des moyennes  $\pm$  erreur-type. Les lettres représentent les différences statistiques significatives ( $p < 0,05$ ) obtenues par le test de Student.*

	Géniteurs mâles			Larves	
	Filets	Sérum	Laitance	4,5°C	8,5°C
<b>Témoin (ng/g PCB)</b>	3,5 ± 0,9a	0 ± 0	0,2 ± 0,2a	0,6 ± 0,8a	0,5 ± 0,01a
<b>Moyenne (ng/g PCB)</b>	50,4 ± 8,5b	3,4 ± 0,7a	0,6 ± 0,4b	1,5 ± 0,7b	0,4 ± 0,04a
<b>Forte (ng/g PCB)</b>	173,4 ± 8,5c	17,0 ± 3,4b	3,3 ± 0,6b	4,5 ± 1,3c	2,0 ± 0,4b

## V.2 Paramètres biodémographiques

### V.2.1 Temps de développement

La durée totale de la fécondation jusqu'au stade juvénile était significativement différente selon les températures (GLM :  $F = 10,65 p < 0,01$ ). Cette durée totale diminue en fonction de la température (figure IV-1). Le nombre de jours total est plus court à 8,5 °C ( $108 \pm 0,5$  jours) comparé à celui calculé à 4,5 °C ( $152 \pm 1,2$  jours).

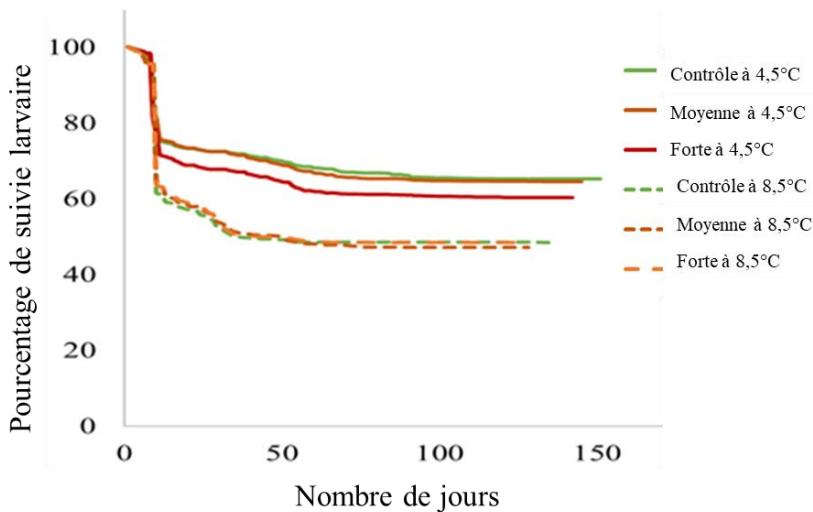
La durée relative du développement (RT) entre la fécondation et le stade juvénile 1 varie selon la température et la période de développement (GLM :  $F = 7,28 p < 0,001$ ). Les différences sont significativement différentes entre les températures pour les périodes de développement comprises entre l'alimentation exogène et le stade juvénile, ou cette période est plus longue à 4,5°C.

*Tableau 4 : Tableau récapitulatif des paramètres biodémographiques. Les données exprimées sont des moyennes  $\pm$  erreur-type. Les lettres représentent les différences statistiques significatives ( $p < 0,05$ ) obtenues par le test du Chi 2 pour RT et le taux de malformations et test de Student pour le temps total et le taux de croissance. E: Eclosion, Em: émergence, AM:Alimentation mixte, AE: alimentation exogéne; J: Juvénile.*

		4,5 °C			8,5 °C		
Contamination paternelle en PCBs (ng/g)		Témoin	Moyenne	Forte	Témoin	Moyenne	Forte
Durée relative du temps de développement (RT %)	Total (jours)	152 $\pm$ 2	151 $\pm$ 1	152 $\pm$ 2	108 $\pm$ 1	108 $\pm$ 2	99 $\pm$ 2
	P1	43,2 $\pm$ 0,5 a	42,8 $\pm$ 0,5 a	41,6 $\pm$ 0,7 b	41 $\pm$ 0,4 b	39 $\pm$ 1,4 bc	38,4 $\pm$ 1,7 c
	P2	22,4 $\pm$ 1 a	22,2 $\pm$ 0,8 a	22,2 $\pm$ 0,9 a	22,2 $\pm$ 0,8 a	22,2 $\pm$ 0,9 a	22,0 $\pm$ 0,8 a
	P3	11,1 $\pm$ 0,1 a	11,2 $\pm$ 0,2 a	10,8 $\pm$ 0,4 a	12,8 $\pm$ 0,5 b	11,6 $\pm$ 0,3 a	12,4 $\pm$ 0,3 b
	P4	24,1 $\pm$ 0,4 a	24,2 $\pm$ 0,1 a	24,1 $\pm$ 1,4 a	9,5 $\pm$ 0,5 b	9,5 $\pm$ 0,3 b	8,8 $\pm$ 0,3 c
	P5	12,7 $\pm$ 0,4 a	12,5 $\pm$ 0,5 a	12,3 $\pm$ 0,6 a	9,7 $\pm$ 0,7 b	9,4 $\pm$ 1,0 b	9,4 $\pm$ 0,6 b
Survie (%)	P1	75,6 $\pm$ 2,2 a	73,6 $\pm$ 1,1 a	61,2 $\pm$ 1,7 b	54,1 $\pm$ 4,3 a	55,3 $\pm$ 5,9 a	53,8 $\pm$ 5,8 a
	P2	71,8 $\pm$ 0,4 a	72,4 $\pm$ 0,4 a	65,8 $\pm$ 1,2 b	50,2 $\pm$ 0,7 c	50,9 $\pm$ 0,2 c	48,1 $\pm$ 1,1 c
	P3	71,5 $\pm$ 0,1 a	66,5 $\pm$ 0,9 b	65,3 $\pm$ 0,7 b	49,9 $\pm$ 0,2 c	48,2 $\pm$ 0,2 c	47,6 $\pm$ 0,4 d
	P4	71,0 $\pm$ 0,4 a	65,2 $\pm$ 0,6 b	64,5 $\pm$ 0,5 b	48,2 $\pm$ 1,1 c	44,1 $\pm$ 0,3 d	45,9 $\pm$ 0,9 d
	P5	70,2 $\pm$ 0,1 a	65,0 $\pm$ 0,1 b	64,1 $\pm$ 0,3 b	48,1 $\pm$ 0,2 c	43,9 $\pm$ 0,7 d	45,6 $\pm$ 0,2 d
Taux de malformations (%)	E	7,5 $\pm$ 1,7 a	23 $\pm$ 6,0 b	14 $\pm$ 6,4 c	3,2 $\pm$ 13,7 d	50 $\pm$ 10 e	43 $\pm$ 12,2 de
	Em	3,0 $\pm$ 3,3 a	45 $\pm$ 6,1 b	66 $\pm$ 9,3 c	3,6 $\pm$ 9,3 d	34 $\pm$ 9,2d	27 $\pm$ 13,3 a
	AM	6,0 $\pm$ 2 a	35 $\pm$ 12,4 b	47 $\pm$ 7,5 b	2,0 $\pm$ 7,5 c	28 $\pm$ 11,2 d	30 $\pm$ 11,6 d
	AE	2,0 $\pm$ 6,8 a	32 $\pm$ 13,3 b	16 $\pm$ 0,8 c	10 $\pm$ 1,5 c	32 $\pm$ 10 b	25 $\pm$ 12,2 a
	J	2,6 $\pm$ 7,2 a	31 $\pm$ 17,7 b	25 $\pm$ 18,4 b	15 $\pm$ 8,7 c	20 $\pm$ 11,6 c	15 $\pm$ 11,6 c
Taux de croissance (TCS)	P2	0,46 $\pm$ 0,1a	0,56 $\pm$ 0,1b	0,56 $\pm$ 0,1 b	0,84 $\pm$ 0,2 c	1,1 $\pm$ 0,2 d	1,45 $\pm$ 0,2 e
	P3	0,61 $\pm$ 0,1 a	0,49 $\pm$ 0,2 b	0,87 $\pm$ 0,2 c	0,9 $\pm$ 0,2 c	0,8 $\pm$ 0,2 c	0,92 $\pm$ 0,2 c
	P4	0,85 $\pm$ 0,2 a	1,2 $\pm$ 0,2b	0,88 $\pm$ 0,1 a	3,2 $\pm$ 0,6 c	5,3 $\pm$ 1,2 d	3,05 $\pm$ 0,5 c
	P5	0,88 $\pm$ 0,2 a	0,78 $\pm$ 0,2 b	0,89 $\pm$ 0,2 a	7,4 $\pm$ 1,8 c	12,3 $\pm$ 1,6 d	10,7 $\pm$ 1,3 e

## V.2.2 Taux de survie

L'analyse de survie via le modèle de Cox a montré qu'il y avait un effet global de la température sur le taux de survie ( $X^2 = 318$ ,  $p < 0,05$ ) (figure IV-2). Les taux de survie à la fin de l'expérimentation sont les plus faibles à 8,5 °C quelle que soit la contamination paternelle (70,2  $\pm$  0,1 % à 4,5 °C, et 48,1  $\pm$  0,2 % à 8,5 °C pour une contamination témoin en PCB ; 65,0  $\pm$  0,1 % à 4,5 °C et 43,9  $\pm$  0,7 % à 8,5 °C pour une contamination moyenne en PCB ; 64,1  $\pm$  0,3 % à 4,5 °C et 45,6  $\pm$  0,2 % à 8,5 °C pour la contamination forte en PCB).



*Figure V-1 :Evolution temporelle du pourcentage de survie pour chaque condition. La courbe verte pleine correspond aux larves issues des témoins incubés à 4,5°C, la courbe orange pleine correspond aux larves issues des mâles moyennement contaminé en PCB incubés à 4,5°C ; la courbe rouge pleine correspond aux larves issues des mâles fortement contaminé en PCB incubés à 4,5°C ; La courbe verte pointillée correspond aux larves issues des témoins incubés à 8,5°C, la courbe orange pointillée correspond aux larves issues des mâles moyennement contaminé en PCB incubés à 8,5°C ; la courbe rouge pointillée correspond aux larves issues des mâles fortement contaminé en PCB incubés à 8,5°C.*

Les taux de survie étaient significativement différents en fonction de la température (GLM :  $F = 14.29, p < 0,05$ ). La période la plus critique pour les 4,5°C est la période entre l'émergence et l'alimentation mixte (en moyenne on observe une augmentation de  $2,1 \pm 1,2\%$  de mortalité). Alors que pour les descendants incubés à 8,5°C la période la plus critique se situe entre l'éclosion et l'émergence (en moyenne on observe une augmentation de  $5,8 \pm 0,14\%$  de mortalité) (Tableau 3).

### V.2.3 Taux de malformation

Le taux de malformation était significativement différent selon l'interaction entre les températures et de la contamination paternelle en PCBs (GLM :  $F = 4,67, p < 0,05$ ).

Le pourcentage d'alevins malformés a augmenté pour les contaminations paternelles à 50 et 173 ng/g, pour toutes les températures notamment pour le stade émergence à 4,5°C et le stade éclosion à 8,5°C. Les pourcentages les plus élevés de malformation ont été observés à 173 ng/g à 8,5 °C pour le stade d'émergence avec 66 %. A cette condition, la majorité des malformations étaient observées (40 %) au niveau de la tête et (40%) des siamois (Tableau 3).

## **V.2.4 Taux de croissance**

Le taux de croissance spécifique global calculé entre l'éclosion et le stade juvénile 1 est seulement significativement impacté par la température (GLM :  $F = 103,49, p < 0,01$ ).

Globalement nous pouvons observer un taux de croissance spécifique plus élevé chez les larves incubées à 8,5°C (cf. Tableau 3).

Le taux de croissance spécifique calculé entre les stades de développement est significativement impacté par la température (GLM :  $F = 28,61, p < 0,05$ ). Les taux de croissance spécifique entre chaque stade sont plus élevés à 8,5 °C. (cf. Tableau 3).

Pour les témoins, le plus fort taux de croissance spécifique (TCS) est observé aux périodes P4 (entre alimentation mixte et alimentation exogène) et P5 (entre alimentation exogène et juvénile) quelle que soit la température. Pour la contamination à 125 ngPCB/g à 4,5°C nous pouvons observer le même profil de taux spécifique avec une remontée de ce dernier entre l'alimentation exogène et le stade juvénile pour les deux températures testées (Tableau 3).

## **V.1 Paramètres comportementaux**

### **V.1.1 Test d'agressivité interindividuelles**

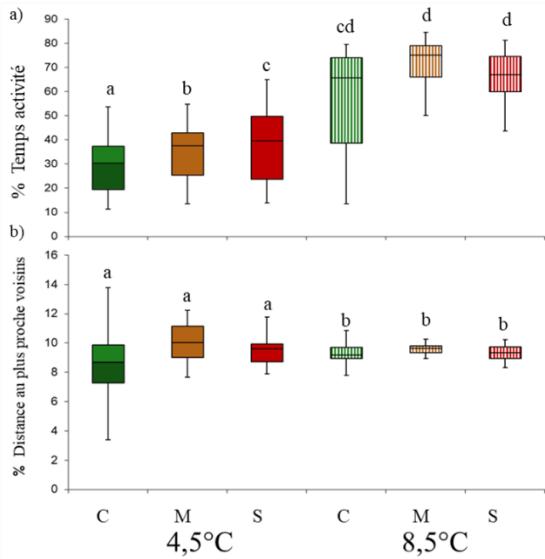
La distance au plus proche voisin est significativement impactée par la contamination paternelle en PCB (GLM :  $F = 4,19, p < 0,05$ ). Cette distance moyenne augmente avec la contamination en PCB pour les deux températures notamment pour la plus forte contamination en PCB, ce phénomène est plus marqué à 8,5°C (Figure IV 5 a).

### **V.1.2 Tests d'activités**

L'activité globale sans distinction de vitesse de nage est impactée par la contamination paternelle en PCB et la température (GLM :  $F = 164, p < 0,05$ ). L'activité est significativement plus élevée pour les larves contaminées par les PCB à 4,5°C où les mesures sont significativement différentes entre elles et augmentent avec la contamination en PCB. A contrario, pour les larves incubées à 8,5°C l'activité est plus importante mais elle n'est pas significativement différente entre les conditions de contaminations (Figure IV 5 b). Les types d'activité sont significativement différentes entre les conditionnements en PCB (GLM :  $F = 6,84, p < 0,05$ ) et montrent une activité de nage saccadée plus importante pour les poissons contaminés à 173 ng/g quel que soit la température.

### V.1.3 Test d'anxiété

La position des larves dans l'arène ne montre pas d'impact significatif de la température et la contamination paternelle en PCBs (GLM :  $F = 0,41, p = 0,52$ ) sur l'anxiété des larves.



*Figure V-2 : Synthèse des différents paramètres significatifs des comportements testés. Les données exprimées sont des moyennes  $\pm$  erreur-type. Les lettres représentent les différences statistiques significatives ( $p < 0,05$ ) obtenues par le test de Student.*

## V.2 Paramètres Physiologiques

### V.2.1 Paramètres de performances

Le volume de la réserve vitelline était significativement différent entre les températures (GLM :  $F = 4,17, p < 0,05$ ).

Durant toute la phase de résorption vitelline, le volume du sac vitellin est significativement plus petit pour les larves incubées à 8,5 °C qu'à 4,5 °C (Tableau 4).

Contamination paternelle en PCBs (ng/g)	4,5 °C			8,5 °C			
	témoin	modérée	forte	témoin	modérée	forte	
Volume réserve vitelline (mm <sup>3</sup> )	E	6,4 ± 0,01 b	6,1 ± 0,01 a	6,1 ± 0,01 a	5,6 ± 0,01 c	5,9 ± 0,01 a	6,1 ± 0,01 a
	EM	5,6 ± 0,01 a	5,5 ± 0,01 a	4,7 ± 0,001 b	4,7 ± 0,01 b	4,5 ± 0,02 b	4,3 ± 0,02 c
	AM	5,2 ± 0,02 b	4,7 ± 0,04 a	4,5 ± 0,01 b	3,3 ± 0,01 c	3,6 ± 0,02 c	3,8 ± 0,001 dc
Efficience d'utilisation de la réserve vitelline	P2	6,4 ± 0,1 a	6,7 ± 2,3 a	5,8 ± 2,8 a	7,3 ± 2,5 a	7,5 ± 2,6 a	8,7 ± 3,7 b
	P3	4,3 ± 0,2 a	4,2 ± 1,2 a	5,4 ± 2,9 b	5,2 ± 1,8 b	7,8 ± 2,1 c	7,0 ± 2,7 c
	P4	1,2 ± 0,1 b	0,46 ± 0,1 a	0,5 ± 0,1 a	0,6 ± 0,5 a	0,5 ± 0,1 a	0,4 ± 0,1 a
SOD (U/ml)	E	2,6 ± 0,03 a	2,6 ± 0,03 a	2,7 ± 0,05 a	2,4 ± 0,08 c	2,6 ± 0,1 a	2,3 ± 0,1 c
	EM	2,6 ± 0,06 a	2,5 ± 0,03 a	2,6 ± 0,04 a	2,3 ± 0,04 c	2,6 ± 0,1 a	2,2 ± 0,06 c
	AM	2,6 ± 0,04 a	2,7 ± 0,05 a	2,7 ± 0,01 a	2,9 ± 0,02 b	2,9 ± 0,01 b	3,0 ± 0,01 b
	AE	2,7 ± 0,3 ab	2,9 ± 0,01 b	2,9 ± 0,02 b	2,2 ± 0,03 c	2,3 ± 0,03 c	2,6 ± 0,12 a
	J	2,9 ± 0,01 b	2,9 ± 0,01 b	2,8 ± 0,04 a	2,9 ± 0,02 b	2,9 ± 0,04 b	2,9 ± 0,02 b
Ache (U/g frais)	E	7,1 ± 1,7 c	5,8 ± 1,7 b	13,5 ± 2,7 d	23,9 ± 5,5 e	27,2 ± 3,2 f	24,5 ± 6,9 ef
	EM	11,7 ± 3,7 a	11,8 ± 2,7 a	16,1 ± 5,2 b	20,1 ± 5,2 b	11,4 ± 3,9 a	23,9 ± 4,8 c
	AM	12,4 ± 4,7 a	15,5 ± 3,7 a	22,4 ± 6,5 b	13,7 ± 2,8 a	22,9 ± 2,7 b	19,2 ± 4,4 b
	AE	28,9 ± 6,7 b	11,3 ± 3,5 a	16,2 ± 6,5 c	35,1 ± 4,7 d	34,6 ± 4,1 d	36,9 ± 5,1 d
	J	18,3 ± 2,6 b	21,6 ± 0,7 a	19,4 ± 1,9 ab	23,2 ± 2,8 a	18,8 ± 2,7 b	22,9 ± 3,8 a

Tableau 5 : Tableau de synthèse des paramètres physiologiques testés. Les données exprimées sont des moyennes ± erreur-type. Les lettres représentent les différences statistiques significatives ( $p < 0,05$ ) obtenues par le test de Student.

L'efficience d'utilisation totale de la réserve vitelline calculée entre l'éclosion et le stade de nutrition exogène est impactée par la température (Température GLM :  $F = 3,60$  ;  $p < 0,05$ ).

L'efficience d'utilisation de la réserve vitelline est plus importante à 8,5 °C. Cette efficience est plus élevée chez les larves contaminées aux doses modérées et fortes en PCB lors de la période P2 (entre l'éclosion et l'émergence) ( $7,5 \pm 2,6$  et  $8,7 \pm 3,7$  respectivement) à 8,5°C, cette tendance se retrouve également pour les larves incubées à 4,5 °C (Tableau 4).

### V.2.2 Les analyses de stress

Le stress oxydatif SOD montre des profils différents en fonction de la température, du stade biologique et de la contamination paternelle en PCB (GLM :  $F = 7,68$ ,  $p < 0,05$ ). A 4,5°C, l'augmentation de la SOD augmente avec le stade de vie quel que soit la contamination paternelle. A contrario, à 8,5 °C cette augmentation n'est pas observée à 8,5°C où le stress oxydatif montre une diminution quelque soit la contamination pour le stade d'alimentation exogène (Tableau 4).

L'AChE était significativement différente selon l'interaction entre la température et la contamination paternelle en PCB (GLM :  $F = 3,95$ ,  $p < 0,05$ ). L'AChE est plus fortement exprimée à 8,5°C qu'à 4,5°C quel que soit le stade et le degré de contamination paternelle en PCB. A 4,5 °C, nous pouvons noter une forte augmentation du neurotransmetteur AChE avec la contamination paternelle en PCB pour les stades : éclosion, émergence et alimentation mixte. A 8,5°C, les contaminations moyennes et fortes montrent les plus fortes expressions d'AChE pour le stade d'alimentation mixte (Tableau 4).

## VI. Discussion

Cette étude met en lumière avec une approche multiparamétrique, l'effet combiné d'une contamination paternelle en PCB et d'une élévation de la température sur le développement des premiers stades de la vie de l'omble chevalier. Des effets potentialisateurs des PCB et de la température ont été montrés pour de nombreux paramètres tels que la croissance, les enzymes de stress oxydatives et le neurotransmetteur AChE. En outre, notre étude montre également des impacts synergiques de ces deux tresseurs à certains stades de vie. Cette étude met également en lumière un continuum de phénotypes potentiellement adaptatif en fonction des différents conditionnements en s'appuyant sur la théorie des POLS et des *copy style*.

### Contamination en PCB paternelle

#### \* Chez les mâles

Les niveaux de contaminations en PCB chez les mâles reflètent la contamination en PCB quelle que soit la matrice utilisée (filet, laitance et sérum). Les niveaux de contamination retrouvés sont variables entre les matrices ce qui est cohérent avec les résultats de la littérature. Monod et Keck, 1982 (figure V-1) montre une forte variabilité de la bioaccumulation des PCB en fonction des organes dosés. De plus, le mode d'injection utilisé lors de cette étude ne semble pas avoir, selon la littérature, d'impact sur l'accumulation des PCB. En effet, de nombreux auteurs ont montré que l'accumulation de PCB était similaire suite à une contamination orale ou par injection intraperitoneale chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) (Andersson et al. 2000), la perchaude (*Perca flavescens*) et la truite arc-en-ciel (*Salmo gardei*) (Guiney & Peterson, 1980).

Dans notre étude, les résultats dans les filets et le sérum montrent une augmentation nette en fonction de la valeur de contamination en Arochlor. Les teneurs en PCB dans la laitance sont également en cohérence avec les résultats de dosage du sérum, même si les valeurs sont proches de la limite de quantification (0,5 ng/g).

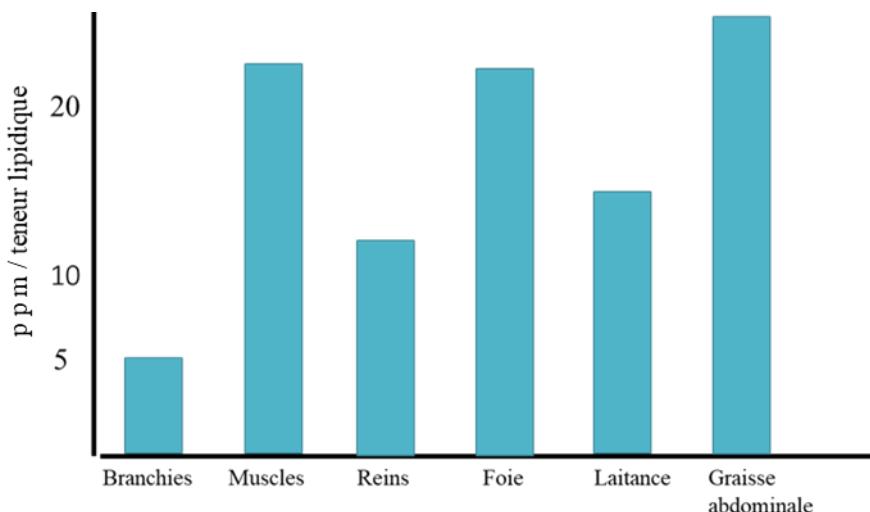


Figure VI-1 : Taux de PCB chez l'omble chevalier (3 ans) d'après (Monod et Keck, 1982)

#### \*Chez les larves

Pour les larves incubées à 4,5°C, leur teneur en PCB est fonction de la contamination paternelle ; ces résultats ne sont pas retrouvés chez les larves incubées à 8,5°C issues pourtant des mêmes géniteurs. Les teneurs en PCB des larves incubées à 8,5°C sont globalement plus faibles qu'à 4,5°C et il n'existe pas de différence significative entre les larves issues des témoins (pères non contaminés à l'Arochlor) et les larves issues des pères contaminés avec la dose de 500 ngPCB/g.

Cette plus faible contamination en PCB des larves incubées à 8,5°C pourrait être expliquée par l'activation plus importante des enzymes de détoxicification (Gill & Walsh 1990). Le cytochrome P450 (CYP450) serait en effet plus activé lors d'une augmentation de la température, en raison de changement de la fluidité membranaire (Das & Sligar 2009). De nombreuses études *in vitro* (Buckman et al. 2004 ; Buckman et al. 2006 ; Buckman et al. 2007 ; Patson et al. 2007) ont montré que les poissons acclimatés à des températures plus chaudes possèdent plus de métabolites des PCB et sont caractérisés par des demi-vies plus courtes ( $t_{1/2}$ ) des PCB dans l'organisme. Inversement, à des températures d'acclimatation plus froides, les métabolites sont moins présents et les  $t_{1/2}$  sont plus longs.

De plus, Jorgensen et al. 2002, 2006 ont montré sur l'omble chevalier qu'une remobilisation des lipides (en cas de jeûne) est accompagnée d'une induction hépatique du CYP450, ce qui contribue à une détoxicification accrue des PCB. Ici la consommation de la réserve énergétique (correspondant à la mobilisation des lipides) pourrait être liée à l'accélération du métabolisme avec l'augmentation de température.

Selon Paterson et al. 2007, la température peut aussi modifier directement la biodisponibilité des PCB. En effet, le Kow des PCB (mesure de la solubilité différentielle de composés chimiques dans deux solvants ou coefficient de partage octanol/eau) augmente avec la température traduisant une partition favorisée vers les lipides, au détriment de la phase aqueuse.

## **Paramètres biodémographiques**

Notre étude montre différents impacts sur les paramètres biodémographiques avec des effets potentialisateurs et synergiques et indépendants de nos deux stresseurs.

### **- Temps de développement**

Seule la température affecte le temps de développement de façon indépendante de la contamination paternelle en PCB. En effet, notre étude montre que le temps de développement est fortement modifié par la température, ce qui est largement référencé dans la littérature (Wood, 1932 ; Embody, 1934 ; Jungwirth & Winkler, 1984 ; Ojanguren & Braña, 2003 ; Lahnsteiner, 2012 ; Réalis-Doyelle et al. 2016). De plus, nos résultats ont montré que la proportion de temps entre les stades de développement variait avec la température, ce qui concorde avec la littérature qui montre également que le temps de développement n'est pas linéaire (Cossins & Bowler, 1987 ; Blaxter, 1991 ; Kamler, 2002 ; Ojanguren & Braña, 2003). En outre, le calcul du temps relatif de développement (RT) montre un impact couplé de la température et du stade de développement avec des variations de temps de développement importants comme référencé dans la littérature (Keckeis et al. 2000) qui pourront avoir des impacts écologiques importants.

La durée relative du temps de développement était plus court entre l'éclosion et l'émergence et entre l'alimentation mixte et l'alimentation exogène à 8,5 °C. Cette réduction de la durée relative de développement durant la période P4 pourrait permettre aux larves d'éviter le moment du PNR (point de non-retour). La transition entre les périodes d'alimentation endogène et exogène est une étape clé pour la vie d'un poisson (Kamler, 1992). Or, cette diminution du temps de développement en fonction de la température pourrait induire une inadéquation entre le moment où la larve va devoir se nourrir de façon exogène et la présence des ressources (proies) qui pourraient ne pas suivre la même dynamique face à ces modifications de température. Si cela se produit, il risque d'y avoir une non adéquation entre la disponibilité de la ressource (et les besoins des prédateurs, phénomène connu sous le nom de mismatch, et décrit par de nombreux auteurs (Kangur et al. 2002 ; Peck et al. 2012).

### **- Taux de survie**

La température a contribué de façon significative à la diminution de survie pour les larves incubées à 8,5°C. Ce résultat n'est pas en concordance avec une étude précédente portant sur les effets d'une contamination maternelle couplée à une hausse de température sur l'omble chevalier (Réalis-Doyelle et al. 2023) où pour les mêmes conditions de contamination et de température que la présente étude, il a été observé un effondrement de la survie pour la plus forte contamination maternelle pour les larves incubées à 8,5°C (survie de 12%).

Néanmoins, nos résultats de survie paternelle sont en cohérences avec de précédentes études,

qui ont montré que le taux d'éclosion des individus diminue à moins de 50 % lorsque les œufs d'omble chevalier sont incubés au-dessus de 8 °C (Jungwirth & Winkler, 1984 ; Swift, 1965, Janhunen et al. 2010 ; Jeuthe et al. 2015). Plusieurs hypothèses ont été formulées pour expliquer cette diminution du taux de survie ; Hayes (1949) suggère qu'à des températures élevées, le taux de diffusion de l'oxygène à travers le chorion est insuffisant et conduit à une mortalité accrue. Swift (1965) suggère que la mortalité à température élevée est due à l'éclosion précoce des individus. De plus, les ombles chevaliers sont parmi les salmonidés les moins résistants aux températures élevées (Baroudy & Elliott, 1994). Néanmoins, ces résultats sont à contraster car de nombreux auteurs observent une adaptation locale aux hausses de températures (Lamy et al. 2012 ; Moore et al. 2017), notamment en comparant des populations vivant dans des environnements différents ou à des latitudes différentes (Allos et Pavin) (Mari et al., 2021). En effet, Mari et al. (2020) ont montré sur 4 populations différentes d'omble chevalier (Léman, lacs de Constance, Pavin et Sainte Croix) le rôle de la température sur les premiers traits du cycle de vie, et révèle des différences génétiques en faveur de la population vivant dans des environnements plus chauds.

### Taux de croissance

Le taux de croissance spécifique est impacté de façon synergique par la température et la contamination en PCB paternelle en fonction du stade de développement. Ce résultat est également trouvé lors d'une contamination maternelle aux PCB couplés à une augmentation de température (Réalisdoyelle et al. 2023). De très nombreuses études ont montré que le taux de croissance larvaire augmente avec une augmentation de la température (Blaxter, 1991 ; Koumoundouros et al. 2001 ; Schultz et Bonar, 2009 ; Barron et al. 2012). Notre étude met en lumière cette impact synergique notamment pour les larves incubées à 8,5 °C et contaminées à 50 et 173 ng/g de PCB qui montrent les plus forts taux de croissance.

### Taux de malformations

La température et la contamination en PCB montrent un impact potentialisateur sur le taux de malformation dû à la contamination paternelle en PCB. Néanmoins, nous pouvons noter que cet effet potentialisateur est fortement dépendant du stade de vie. En outre, nos résultats montrent une forte augmentation des malformations pour les individus résultant d'une contamination paternelle à 173 ng/g incubés à 8,5 °C, la majorité des malformations (40 %) sont localisées au niveau de la tête (3 yeux, prognathisme, rétrognathisme) et des formes de siamois (40%). Les malformations trouvées lors de cette étude différente des malformations retrouvées lors d'une transmission maternelle à 250 ng/g incubés à 8,5 °C, la majorité des malformations (40 %) étaient localisées sur le sac vitellin (œdème) (Réalisdoyelle et al. 2023). Ce type de malformation est connu dans la littérature suite à une augmentation de

température chez les salmonidés (Emadi, 1973, Lansteiner, 2012 ; Réalis-doyelle et al., 2016). La littérature fournit des informations sur les malformations précoces dues aux PCB (Billsson et al. 1998 ; Olsson et al. 1999), en particulier sur les lésions de la colonne vertébrale.

Ces différences entre les typologies de malformation peuvent être expliquées par le fait que chez les salmonidés en général, l'altération de l'ADN des spermatozoïdes peut diminuer la fonction du mécanisme de réparation des ovocytes lors des processus de fécondation et de développement embryonnaire comme décrits chez les mammifères et les poissons (Cabrita et al. 2005 ; Zhou et al. 2016). Cependant, cette capacité de réparation reste limitée. Dans le cas des poissons, les ovocytes ont une grande capacité à réparer l'ADN endommagé, avec jusqu'à 10% de réparation de la chromatine fragmentée du sperme estimée au cours du processus de fécondation et de développement embryonnaire (Fernandez-Díez et al. 2015, 2016). De plus, Bonnet et al. (2007) ont montré chez *O. mykiss*, que les conditions de reproduction des mâles qui produisent des gamètes de faible qualité induisent certains types spécifiques de malformations.

En outre, l'information paternelle ne réside pas seulement dans son génome, mais également dans son schéma spécifique de marques épigénétiques, son contenu en ARNm et ses ARN non codants (Herráez et al. 2017 ; Robles et al. 2017). Il existe des données suggérant qu'une variété de facteurs environnementaux peuvent altérer les informations épigénétiques contenues dans les cellules germinales et échapper aux processus de reprogrammation qui se produisent pendant la gamétogenèse et pendant le développement précoce de l'embryon (Klosin et al. 2017). Il a également été observé chez le poisson zèbre que l'exposition paternelle au perturbateur endocrinien chimique bisphénol A (BPA) modifie le contenu des transcrits spermatiques des gènes codant pour les récepteurs de l'insuline (insrs), favorisant les malformations cardiaques jusqu'à F2 (Lombó et al. 2015). L'expérimentation de Valcarce et al. (2017) chez le poisson zèbre montre que l'exposition paternelle à 5 ng/L d'EthylynEstradiol (EE2) induit sur les larves une augmentation des malformations du squelette crânien. Chez ces larves il est observé une régulation à la baisse de l'expression du récepteur à l'oestradiol (ER) dans la descendance des mâles traités. Cette diminution de ER pourrait être responsable des malformations craniofaciales.

De plus, il a été décrit des effets sur le comportement reproducteur et non reproducteur (anxiété notamment) favorisés par l'exposition à l'EE2 durant le développement précoce du poisson zèbre et ensuite sur la génération F1 non exposé mais issue de ces pères exposés à l'EE2 (Volkova et al. 2015). Cette non-réparation des malformations embryonnaires dues à la transmission paternelle pourrait expliquer la différence de résultats trouvés avec l'étude précédente menée sur les effets d'une contamination maternelle en PCB couplée à une hausse de température (Réalis-Doyelle et al., 2023) où les malformations étaient principalement retrouvées au niveau de la colonne et du sac vitellin.

## Paramètres comportementales

### Test d'agressivité inter-individuelle

Seule la température impact le nombre de contact physique des larves, cette réponse à également

été mise en évidence chez des juvéniles de saumon atlantique (*Salmo salar*) (Gibson, 2015) et les larves de truite commune (*salmo trutta*) (Colchen et al. 2017) et lors d'une contamination maternelle aux PCB couplée à une hausse de température (Réalis-doyelle et al. 2023).

#### Test d'anxiété

La contamination paternelle en PCB a un impact significatif sur l'anxiété des descendants. Dans une étude précédente, dans les mêmes conditions, la température et de contamination en PCB maternelle, ces deux facteurs agissaient de façon potentialisatrice sur l'anxiété des larves contaminées à 125 et 250 ng/g à 8,5°C (Réalis-Doyelle et al. 2023).

Ce positionnement est contraire au comportement anti-prédateur décrit chez les téléostéens (Marcucella & Abramson, 1978). Ce comportement de positionnement dans les zones hautes de la colonne d'eau est généralement décrit lors d'expérimentations où les individus sont soumis à des molécules anxiolytiques (Levin et al. 2007 ; Egan et al. 2009). Ainsi, nos larves contaminées à 50 et 173 ng/g à 8,5 °C pourraient par leur attitude peu anxieuse s'exposer plus facilement à un prédateur, mais à l'inverse cela pourrait favoriser leur rencontre avec des partenaires. A l'inverse, des individus caractérisés comme timide et/ou plus anxieux qui seraient moins exposés aux prédateurs, mais pour qui la recherche de nourriture ou de partenaire pourra s'avérer plus complexe (Conrad et al. 2011). Néanmoins, ces observations pourraient évoluer dans le temps, car une caractéristique des téléostéens est que la personnalité n'est pas fixée aux stades larvaires et juvéniles (Bell & Stamps, 2004 ; Herczeg et al. 2013 ; Edenbrow & Croft, 2013) mais semble se stabiliser à l'âge adulte (Polverino et al. 2016) sous réserve de l'absence de facteurs de stress externes. En outre, de nombreuses études tendent à montrer que les réponses de copy style sont héritables (Ferrari et al., 2016).

#### Test d'activité

La contamination paternelle en PCB et la température agissent de façon additive sur l'activité des larves. Ce résultat est également retrouvé dans la littérature lors d'une hausse de température qui montre une augmentation de l'activité chez les larves de truite (*Salmo trutta*) (Colchen et al. 2017) et les larves de poissons demoiselles (*Ischnura damselflies*) (Debecker et al. 2018). Néanmoins, les résultats de notre étude sont différents d'une étude précédente menée sur l'impact d'une transmission maternelle des PCB couplé à une hausse de température, l'activité des larves était seulement impactée par la contamination maternelle (Réalis-Doyelle et al. 2023).

## **Paramètres physiologiques**

### Paramètres de performances

La température a un impact sur le volume du sac vitellin, ce qui est différent d'une étude précédente menée sur la transmission maternelle des PCB couplée à une hausse de température ou le volume du sac vitellin était dépendant de la contamination maternelle en PCB et de la température (Réalis-Doyelle et al. 2023). La relation entre température et consommation de la réserve vitelline est fortement référencée dans la littérature ; ainsi, lors d'une augmentation de la température, le métabolisme et les besoins physiologiques (respirations, maintenance) seront augmentés, ce qui induira une consommation plus rapide de la réserve vitelline (Johnston & McLay, 1997 ; Pepin et al. 1997 ; Ojanguren et Braña, 2003).

### Efficience d'utilisation du sac

Nous avons mis en évidence que la température seule a un impact sur l'efficience d'utilisation de la réserve vitelline. Ce résultat diffère de l'étude menée sur l'impact de la contamination maternelle en PCB couplée à une hausse de température ou un effet synergique de la contamination maternelle en PCB et de la température a été mis en évidence (Réalis-Doyelle et al. 2023). Néanmoins, Hardy & Litvak (2004) montrent un effet seul de la température sur l'efficience d'utilisation de la réserve vitelline. De plus, durant l'émergence, les alevins vont quitter le gravier naturel lorsque leurs réserves vitellines ont été consommées et vont commencer à nager dans la colonne d'eau (phase d'émergence) (Klemetsen et al., 2003). Ce comportement est consommateur d'énergie et les alevins doivent faire un compromis entre d'une part nager pour trouver de la nourriture et d'autre part allouer de l'énergie à la croissance et à la formation des tissus. De plus, à l'émergence, certaines fonctions biologiques vitales (par exemple, l'alimentation et la locomotion) doivent être fonctionnelles et par conséquent, ces structures doivent se développer (Osse & Van den Boogaart, 1995 ; Simonovic et al. 1999 ; Russo et al. 2007 ; Ben Khemis et al. 2013, Gisbert et al. 2014). En effet, pendant la période de nutrition endogène, les alevins dépensent beaucoup d'énergie pour assurer l'organogenèse et allouent principalement de l'énergie à la création de nouveaux tissus (Elliott, 1981 ; Cossins & Bowler, 1987 ; Kamler, 1992 ; Ojanguren & Braña, 2003).

### Dosage de stress (SOD, AChE)

Notre étude montre une augmentation du stress oxydatif (SOD) due aux effets synergiques de la contamination en PCB et de la température. L'augmentation de ce stress via une augmentation de la température est en accord avec la littérature lors d'une étude menée sur l'impact de la contamination maternelle en PCB couplée à une hausse de température (Réalis-Doyelle et al. 2023). Une augmentation de ces marqueurs de stress oxydatif est également décrite par Zhang et al. (2009) suite à une contamination aux PCB chez le poisson rouge (*Carassius auratus*). Néanmoins, Palace et al. (1996) n'observent pas de changement dans l'activité de la SOD et de la CAT chez les juvéniles de touladi (*Salvelinus namaycush*) suite à l'exposition à différentes concentrations de PCBs par injection

intrapéritonéale. Ainsi, le stade de développement au cours duquel sont réalisés les expérimentations semblent prépondérants.

En outre, la température et la contamination ont un effet synergique sur le neurotransmetteur AChE en fonction du stade de développement. L'activité de l'AChE augmente avec une augmentation de la température et la contamination aux PCB de 173 ng/g pour les larves incubées à 8,5 °C. Ce résultat va également dans le sens de la littérature lors d'une étude menée sur l'impact de la contamination maternelle en PCB couplée à une hausse de température (Réalis-Doyelle et al. 2023). Cette observation a également été réalisée par Hogan (1970) chez le crapet arlequin (*Lepomis macrochirus*) ; néanmoins, Laetz et al. (2014) n'ont pas observé d'impact de l'augmentation de la température de l'eau sur l'activité de l'AChE chez les saumons coho juvéniles (*Oncorhynchus kisutch*). De plus, Barra et al. (2001) ont observé une inhibition de l'activité de l'AChE chez le chevesne (*Leuciscus cephalus*) exposé dans une rivière fortement contaminée par les PCB. Bien que l'effet des PCB sur l'activité de l'AChE soit peu étudié dans la littérature, nos résultats s'associent avec ses observations sur les premiers stades de développement où l'on observe une inhibition de l'activité de l'AChE par les polluants organiques (insecticides) tels que les carbamates ou les organophosphorés (Laezt et al. 2009 ; Breaud et al. 2000 ; Modesto & Martinez, 2010). Néanmoins, comme le montrent notre étude et la variabilité des résultats trouvés dans la littérature, le stade de développement semble également avoir un rôle prépondérant sur l'activité de ce neurotransmetteur. Ainsi, l'AChE au stade juvénile augmente avec la température, tout comme l'activité des larves lors de l'incubation à 4,5°C et augmente lors du stade de nutrition exogène à 8,5°C. Ces résultats sont en cohérence avec des études précédentes qui montrent une augmentation de l'activité individuelle avec la température (Fukuhara, 1990 ; Biro et al. 2010). De plus, nos résultats montrent également une augmentation de l'agressivité corrélée à l'augmentation de température, cette réponse à également été mise en évidence chez des juvéniles de saumon atlantique (*Salmo salar*) (Gibson, 2015) et des larves de truite (*salmo trutta*) (Colchen et al. 2017).

### **Conséquences écologiques possibles et POLS**

Les résultats de notre étude sont en cohérence mais différents en terme d'intensité avec une étude précédente menée sur l'impact de la contamination maternelle en PCB couplée à une hausse de température (Réalis-Doyelle et al. 2023). En effet, dans la présente étude, comme dans la précédente, nous pouvons discerner différents phénotypes dus à des modifications physiologiques et comportementales. En outre, si nous transposons nos paramètres bien qu'incomplets par rapport aux paramètres utilisés par Reale et al. (2007) et des copy style nous pouvons distinguer un continuum de trois profils.

Tout comme l'étude précédente portant sur les effets d'une contamination maternelle en PCB couplée à une augmentation de température, le groupe de témoin incubé à 4,5°C présente un rythme de vie lent, avec peu d'activation des enzymes de stress et un comportement peu anxieux et actif. Ainsi, ces individus, non contaminés en PCB, se rapprochent du profil ayant un rythme de vie lent proposé par la

théorie des POLS ou réactif pour les copy style, ce qui est classiquement retrouvé dans la littérature pour des sténothermes froids (Debecker et al. 2019).

En outre, les individus étant issus de père moyennement contaminés en PCB présentent quel que soit la température des taux de croissance supérieures aux témoins notamment entre la phase d'alimentation mixte et exogène. Ce qui contraste avec l'étude précédente portant sur les effets d'une contamination maternelle couplée à une hausse de température où ces larves montraient la plus forte décroissance du taux de croissance entre l'éclosion et l'alimentation exogène puis ce dernier ré-augmentait. Des hypothèses de préservation du métabolisme, quand les conditions environnementales sont défavorables, avaient été émises en concordance avec van Raaij et al. (1996) et Clingerman et al. (2007) qui supposent que la diminution d'activité en réponse à des facteurs de stress est une adaptation comportementale afin de minimiser la dépense énergétique associée au comportement de nage. Pour conclure, les larves contaminées à 50 ng/g semblent intermédiaires aux deux profils proposés par la théorie des POLS, avec des différences au niveau du comportement d'agressivité, de l'activation de système parasympathique et du métabolisme. Cet ensemble de résultats est en cohérence avec la présente étude portant sur l'impact d'une contamination en PCB couplée à une hausse de température (Tableau 4).

Les larves contaminées à 173 ng/g présentent une forte utilisation de leur réserve vitelline entre l'éclosion et l'émergence que nous pouvons relier à un fort taux de croissance. Ces résultats sont en cohérence avec les résultats trouvés précédemment (Réalis-Doyelle et al. 2023) néanmoins l'impact maternel sur ces paramètres semblent plus important que l'impact paternel (Tableau 6).

De plus, ces larves présentent une augmentation de leur AChE lors d'une forte contamination ce qui est en cohérence avec une étude précédente (Réalis-Doyelle et al. 2023). Cette augmentation peut être liée à nos résultats d'analyses de comportement qui montrent des larves plus stressées avec une nage saccadée. En outre, lors de l'étude portant sur les effets de la contamination maternelle en PCB couplée à une augmentation de la température, les auteurs ont émis l'hypothèse d'un retard du développement visuel lors de la première phase de croissance et d'un retard de croissance du myotome pouvant être reliée à des comportements de nage saccadée (Barber et al. 2000) et peu anxieux qui pourrait les rendre plus prédatées. Cette observation a également été faite par de nombreux auteurs qui montrent un comportement de nage altéré (comportement hyperactif) et à une mauvaise cohésion des individus (Triebeskorn et al. 1997 ; Nakayama et al. 2004 ; Schmidt et al. 2005 ; Pean, 2012). Ce comportement hyperactif a déjà été observé chez de nombreuses espèces contaminées aux PCB (Holene et al. 1998 ; Banerjee et al. 2007) et pourrait être causé par une altération de la voie dopaminergique (Pean, 2012). En outre, cette augmentation d'activité peut être reliée à un taux élevé d'efficacité d'utilisation du sac vitellin pour supporter cette hyperactivité. De plus, une augmentation du stress oxydatif va également entraîner une augmentation du cout métabolique (Gandar, 2016) ainsi ces coûts métaboliques cumulés (comportement de nage saccadé et stress oxydatif) pourraient mener ces larves à une croissance diminuée ce qui semble se refléter par leur taille amoindrie par rapport aux autres conditions. En

conclusion, les larves contaminées à 173 ng/g tendent à avoir un rythme de vie rapide comme décrit par Réale et al. (2007) ou comme pro actif par les copy style, avec un fort taux de croissance, une forte agressivité et activité ainsi qu'une augmentation du stress oxydatif qui engendrera certainement une augmentation du coût métabolique d'où une forte efficience de la réserve vitelline.

Les résultats des trois profils ne sont pas parfaitement en accord avec la théorie POLS, mais une étude récente (Montiglio et al. 2018) a mis en évidence certaines réserves à la théorie avancée en 2010 par Reals et al. (2010) suggérant qu'elle dépend fortement du contexte. Ainsi, notre étude soutient expérimentalement l'une des hypothèses de Hämäläinen et al. (2020), qui suggère que POLS devrait être plus fort dans des environnements défavorables. En effet, Alfonso et al. (2018) ont démontré que les différences interindividuelles étaient interconnectées d'un point de vue physiologique et comportemental, aboutissant à un continuum entre deux types extrêmes d'individus (proactifs et réactifs). Dans notre étude, différents phénotypes dus à des changements physiologiques et comportementaux ont pu être discernés.

En conclusion, notre étude est la première à notre connaissance à mettre en évidence des effets synergiques d'une contamination paternelle en PCB et d'une hausse de température sur de nombreux paramètres tels que la croissance, les malformations, les enzymes de stress oxydative et neuronal. Ces résultats sont en concordances avec une étude précédente portant sur les effets d'une contamination maternelle en PCB couplée à une hausse de température (Réalis-Doyelle et al., 2023). Ainsi, la transmission parentale des PCB a un impact négatif sur les traits de vie quelque soit la température.

De plus, cette étude met en évidence un effet additif de la température et des PCB sur l'activité, et un effet des PCB seuls sur l'anxiété. La température impacte seule l'agressivité des larves ainsi que leur temps de développement comme montré précédemment dans la littérature (Réalis-Doyelle et al., 2023) mais elle impacte également la survie et l'efficacité d'utilisation de la réserve vitelline. Ainsi, notre étude met en évidence un continuum d'adaptations, physiologique et comportementale, en fonction de la contamination en PCB en s'appuyant sur la théorie de POLS et des copy style. En revanche, quand nous comparons le scoring des traits de vie entre notre étude et l'étude précédemment réalisé sur l'impact d'une contamination maternelle couplée à une haussse de température nous pouvons noter que l'impact de la transmission maternelle des PCB est plus impactante que la transmission paternelle, ce qui est conforme à ce qu'on attendait (Tableau 6).

Tableau 6 : Tableau récapitulatif de la réponse aux des paramètres répondant à la théorie des POLS (Réals et al. 2007) et Copy style. Le + et couleur verte = réponse forte, - et couleur orange = réponse faible. T=témoins, M=contamination modérée, F= contamination forte.

	Température (°C)	4,5 °C			8,5 °C			Théorique	
		T	M	F	T	M	F	Lent / Réactifs	Rapide / Proactifs
Stratégie biodémographique	Contamination en PCBs (ng/g)								
Stratégie biodémographique	Taux de croissance	1	2	2	1	2	3	1	3
Comportement	Agressivité	1	1	1	1	1	1	1	3
Comportement	Activité	1	2	3	1	2	2	1	3
Comportement	Anxiété	1	1	1	1	1	1	1	3
Physiologie	Oxydatif (SOD)	1	1	1	1	1	2	1	3
Physiologie	AcHE = système parasympathique	1	2	3	1	2	3	3	1
Physiologie	Métabolisme= Efficience du sac vitellin	1	1	2	1	1	2	1	3
Scoring total effet paternel		C	+3	+6	C	+3	+7	C	+9
Scoring total effet maternelle (Réalis-Doyelle et al., 2023)		C	+4	+9	C	+5	+15	C	+9

Tableau 7 : Tableau récapitulatif de la réponse aux des paramètres répondant à la théorie des POLS (Réals et al. 2007) et Copy style. Le + et couleur verte = réponse forte, - et couleur orange = réponse faible. T=témoins, M=contamination modérée, F= contamination forte.

## VII. Références

Afonso, J. M., Montero, D., Robaina, L., Astorga, N., Izquierdo, M. S., Gines, R. 2000. Association of a lordosis-scoliosis-kyphosis deformity in gilthead seabream (*Sparus aurata*) with family structure.

- Fish Physiology and Biochemistry, 22,159–163. doi:10.1023/A:10078117.
- Alfonso, S. 2018. Interactions entre traits de personnalité des téléostéens, environnement et polluants. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Montpellier. En écologie et biodiversité École doctorale GAIA Laboratoire Adaptation et Adaptabilité des Animaux et des Systèmes, Ifremer (UMR MARBEC) Laboratoire Ressources Halieutiques de La Rochelle, Ifremer.
- Alla, Y.L., Ouattara, M., Blé, M.C., Atse, B.C. 201.0. Etude de la fécondité du silure Africain *Heterobranchus bidorsalis* (Geoffroy Saint-Hilaire, 1840) en conditions d'élevage. Tropicultura, 28, 1, 31-36.
- Andersson, P L., Berg, A. H., Bjerselius, R., Norrgren, L., Olsén, H., Olsson, P. E., Örn, S., Tysklind, M., 2001. Bioaccumulation of selected PCBs in zebrafish, three-spined stickleback, and arctic char after three different routes of exposure. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 40(4), 519–530. <https://doi.org/10.1007/s002440010205>.
- Baas, J. S., Kooijman, A. L. M. 2015. Sensitivity of animals to chemical compounds links to metabolic rate. Ecotoxicology 24:657–663.
- Banerjee, T. D., Middleton, F. et Faraone, S. V. 2007. Environmental risk factors for attention-deficit hyperactivity disorder. Acta Pædiatrica, 96(9),1269–1274.
- Barber, I., Hoare, D. et Krause, J. 2000. Effects of parasites on fish behaviour: A review and evolutionary perspective. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 10,131–165.
- Baroudy, E., Elliott, J. M. 1994. The critical thermal limits for juvenile Arctic charr *Salvelinus alpinus*. Journal of Fish Biology, 45(6), 1041–1053. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1994.tb01071.x>.
- Barra, R., Notarianni, V., Gentili, G. 2001. Biochemical Biomarker Responses and Chlorinated Compounds in the Fish *Leuciscus cephalus* Along a Contaminant Gradient in a Polluted River. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 66(5), 0582–0590. <https://doi.org/10.1007/s00128-001-0048-4>.
- Barron, J. M., Jensen, N. R., Anders, P. J., Egan, J. P., Ireland, S. C., Cain, K. D., 2012. Effects of temperature on the intensive culture performance of larval and juvenile North American burbot (*Lota lota maculosa*). Aquaculture, 364–365, 67–73. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.07.037>
- Barton, B. A. 2002. Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. Integrative and Comparative Biology, 42(3), 517–525. <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.517>.
- Bell, A.M., Stamps, J.A. 2004. Development of behavioural differences between individuals and populations of sticklebacks, *Gasterosteus aculeatus*. Animal Behaviour, 68, 1339-1348.
- Ben Khemis, I., Gisbert, E., Alcaraz, C., Zouiten, D., Besbes, R., Zouiten, A., Slaheddine Masmoudi, A., Bengtsson, B. E. 1980. Long-term effects of PCB (Clophen A50) on growth, reproduction and swimming performance in the minnow, *Phoxinus phoxinus*. Water Research, 14(6), 681–687. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(80\)90127-X](https://doi.org/10.1016/0043-1354(80)90127-X).
- Bertucci, F., Attia, J., Beauchaud, M., Mathevon, N. 2013. The relevance of temporal cues in a fish sound: a first experimental investigation using modified signals in cichlids. Animal Cognition, 16, 45–54.
- Bijleveld, A I., Massourakis, G., van der Marel, A., Dekkinga, A., Spaans, B., van Gils, J A., Piersma T 2014. Personality drives physiological adjustments and is not related to survival Proc. R. Soc. B.2812013313520133135 <http://doi.org/10.1098/rspb.2013.3135>
- Billsson, K., Westerlund, L., Tysklind, M. Olsson, P.-E. 1998. Developmental disturbances caused by polychlorinated biphenyls in zebrafish (*Brachydanio rerio*). Marine Environmental Research, 46(1–5):461–464.
- Biro, PA, Beckmann C, Stamps, JA. 2010. Small within-day increases in temperature affects boldness and alters personality in coral reef fish. Proc. R. Soc. B, 277, 71–77<https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1346>.
- Blaxter, J. H. S. 1991. The effect of temperature on larval fishes. Netherlands Journal of Zoology, 42(2–3), 336–357. <https://doi.org/10.1163/156854291X00379>.
- Blom, S., Förlin, L. 1997. Effects of PCB on xenobiotic biotransformation enzyme activities in the liver and 21-hydroxylation in the head kidney of juvenile rainbow trout. 39, 215–230.
- Bonnet, E., Fostier, A., Bobe, J. 2007. Characterization of rainbow trout egg quality: A case study using four different breeding protocols, with emphasis on the incidence of embryonic

- malformations, *Theriogenology*, 67 (4) : 786-794, ISSN 0093-691X, <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2006.10.008>.
- Borgå, K., Saloranta, T. M., Ruus, A. 2010. Simulating climate change-induced alterations in bioaccumulation of organic contaminants in an arctic marine food web. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(6), 1349–1357. <https://doi.org/10.1002/etc.159>
- Breivik, K., Sweetman, A., Pacyna, JM., Jones, K. 2002. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congeners — a mass balance approach: 2. Emissions. *Science of The Total Environment*. 290, 199-224.
- Bretaud, S., Toutant, J. P., Saglio, P. 2000. Effects of carbofuran, diuron, and nicosulfuron on acetylcholinesterase activity in goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47(2), 117–124. <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1954>.
- Buckman, A. H., Fisk, A. T., Parrott, J. L., Solomon, K. R., Brown, S. B., 2007. PCBs can diminish the influence of temperature on thyroid indices in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 84(3), 366–378. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2007.06.016>
- Buckman, AH., Norstrom, R.J., Hobson, K., Karnovsky, N., Duffe, J., Fisk, A, 2004 Organochlorine contaminants in seven species of Arctic seabirds from northern Baffin Bay, *Environmental Pollution*, 128 (3), 327-338, ISSN 0269-7491, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2003.09.017>
- Buckman, AH.; Brown, SB.; Small, J., Muir, D C. G., Parrott, J., Solomon, K R., Fisk, AT., 2007. Role of Temperature and Enzyme Induction in the Biotransformation of Polychlorinated Biphenyls and Bioformation of Hydroxylated Polychlorinated Biphenyls by Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) ; - *Environmental Science & Technology*, American Chemical Society
- Bustos, C. A., Landaeta, M. F., Bay-Schmith, E., Lewis, R., Moraga, X. 2007. Effects of temperature and lipid droplet adherence on mortality of hatchery-reared southern hake *Merluccius australis* larvae. *Aquaculture*, 270(1–4), 535–540. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.03.032>
- Cabrita, E., Robles, V., Rebordinos, L., Sarasquete, C., Herráez M.P. 2005 Evaluation of DNA damage in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cryopreserved sperm, *Cryobiology*, 50 (2), 144-153, ISSN 0011-2240, <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2004.12.003>.
- Cannon, W.B. 1915. Bodily changes in pain, hunger, fear and rage. New York: Appleton
- Castanheira, M.F., Conceição, L.E.C., Millot, S., Rey, S., Bégout, M.-L., Damsgård, B., Kristiansen, T., Höglund, E., Øverli, Ø., Martins, C.I.M., 2015. Coping styles in farmed fish: consequences for aquaculture. *Reviews in Aquaculture* 9, 23–41. doi:10.1111/raq.12100
- Caudron, A., Lasne, E., Gillet, C., Guillard, J., Champigneulle, A. 2014. Thirty years of reiglotrophication do not contribute to restore self-sustaining fisheries of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, in Lake Geneva. *Fisheries Research*, 154, 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2014.01.023> .
- Celander, M., Förlin, L. 1995. Decreased responsiveness of the hepatic cytochrome P450 1A1 system in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after prolonged exposure to PCB. *Aquatic Toxicology*, 33(2): 141–153.
- Clingerman, J., Bebak, J., Mazik, P.M., Summerfelt, S.T. 2007. Use of avoidance response by rainbow trout to carbon dioxide for fish self-transfer between tanks. *Aquacultural Engineering* 37, 234-251.
- Colchen, T., Teletchea, F., Fontaine, P., Pasquet, A. 2016. Temperature modifies activity, inter-individual relationships and group structure in a fish. *Current Zoology*, 63, 175–183, <https://doi.org/10.1093/cz/zow048>.
- Conrad, J.L., Weinermith, K.L., Brodin, T., Saltz, J.B., Sih, A. 2011. Behavioural syndromes in fishes: a review with implications for ecology and fisheries management. *Journal of Fish Biology* 78, 395-435
- Cordier,S. 2008.
- Cossins, A. R., Bowler, K. 1987. Temperature biology of animals. In Chapman & Hall, London.
- Damsgard, B., Evensen, TH., Overli, O., Gorissen, M., Ebbesson, LOE., Rey, S., Hoglund, E. 2019 Proactive avoidance behaviour and pace-of-life syndrome in Atlantic salmon. *R Soc Open Sci.*;6(3):181859.
- Daouk, T., Larcher, T., Roupsard, F., Lyphout, L., Rigaud, C., Ledevin, M., Loizeau, V., Cousin, X. 2011. Long-term food-exposure of zebrafish to PCB mixtures mimicking some environmental situations induces ovary pathology and impairs reproduction ability. *Aquatic Toxicology*. 105 : 270–

- Das, A., Sligar, S.G. 2009 Modulation of the Cytochrome P450 Reductase Redox Potential by the Phospholipid Bilayer . Biochemistry, 48 (51), 12104–12112 Publication  
<https://doi.org/10.1021/bi9011435>
- Debecker S, Stoks R. 2019. Pace of life syndrome under warming and pollution: integrating life history, behavior, and physiology across latitudes. Ecological Monographs, 89(1): e01332.
- Dinh Van, K., L. Janssens, S. Debecker, and R. Stoks. 2014. Temperature-and latitude-specific individual growth rates shape the vulnerability of damselfly larvae to a widespread pesticide. Journal of Applied Ecology 51:919–928.
- Dou, S. Z., Masuda, R., Tanaka, M., & Tsukamoto, K. 2005. Effects of temperature and delayed initial feeding on the survival and growth of Japanese flounder larvae. Journal of Fish Biology, 66(2), 362–377. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2005.00601.x>.
- Edenbrow, M., Croft, D.P., 2013. Environmental and genetic effects shape the development of personality traits in the mangrove killifish *Kryptolebias marmoratus*. Oikos 122, 667-681
- Egan, R.J., Bergner, C.L., Hart, P.C., Cachat, J.M., Canavello, P.R., Elegante, M.F., Elkhayat, S.I., Bartels, B.K., Tien, A.K., Tien, D.H., Mohnot, S., Beeson, E., Glasgow, E., Amri, H., Zukowska, Z., Kalueff, A.V. 2009. Understanding behavioral and physiological phenotypes of stress and anxiety in zebrafish. Behav Brain Res 205, 38-44
- Elliott J.M.1981. Some aspects of thermal stress on freshwater teleosts. In Stress and fish. A.D. Pickering Ed., pp. 209-245.
- Emadi, H. 1973. Yolk-Sac Malformation in Pacific Salmon in Relation to Substrate, Temperature, and Water Velocity. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 30, 1249–1250.  
<https://doi.org/10.1139/f73-200>.
- Embody G. 1934. Relation of temperature to the incubation periods of eggs of four species of trout. Transactions of the American Fisheries Society, 64, 281-292.
- Engel, G., Schmälé, A., 1972. Conservation withdrawal: a primary regulatory process for organic homeostasis. Physiology, emotions and psychosomatic illness, 57-95.
- Fernandez-Diez, S., González-Rojo, S., Lombó, M., P Herráez, M 2016. Impact of sperm DNA damage and oocyte-repairing capacity on trout development. 6 Society for Reproduction and Fertility DOI: 10.1530/REP-16-0077 ISSN 1470–1626 (paper) 1741–7899 (online)
- Ferrari, S., Horri, K., Allal, F., Vergnet, A., Benhaim, D., Vandepitte, M., Chatain, B., Bégout, M.L., 2016. Heritability of boldness and hypoxia avoidance in European seabass, *Dicentrarchus labrax*. PloS one 11.
- Ferrari, S., Millot, S., Leguay, D., Chatain, B., Bégout, M.L., 2015. Consistency in European seabass coping styles: A life-history approach. Applied Animal Behaviour Science 167, 74-88.
- Fisk, A. T., Hobson, K. A., Norstrom, R. J. 2001. Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the Northwater Polynya marine food web. Environmental Science and Technology, 35(4), 732–738. <https://doi.org/10.1021/es001459w>.
- Fukuhara, O. 1990. Effects of temperature on yolk utilization, initial growth, and behavior of unfed marine fish-larvae. Mar Biol 106:169–174.
- Gandar, A. 2015. Réponse aux stress multiples chez les poissons : effets croisés de la température et des cocktails de pesticides. Ecologie, Environnement. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2.Français. ffNNT : 2015TOU30310ff. fftel-01400793
- Gibson, RJ. 2015. Some behavioural and ecological factors affecting distribution, biomass and production of juvenile Atlantic salmon. Ecol Fresh Fish 24:397–411.
- Gill, K.A. J. Walsh. P. 1990 Effects of Temperature on Metabolism of Benzo[a]pyrene by Toadfish (*Opsanus beta*) Hepatocytes. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 47(4): 831-837. <https://doi.org/10.1139/f90-096>
- Gisbert, E., Asgari, R., Rafiee, Gh., Agh, N., Eagderi, S., Eshaghzadeh, H., Alcaraz, C. 2014. Early development and allometric growth patterns of beluga *Huso huso* (Linnaeus, 1758). Journal of Applied Ichthyology, 30, 1264-1272.
- Goulet, C., Thompson, M.B., Michelangeli, M., Wrong, D., Chapple, G. 2017 Thermal physiology: A new dimension of the pace-of-life syndrome. Journal of animal ecology 86 (5) : 1269-1280  
<https://doi.org/10.1111/1365-2656.12718>
- Guillard, J., Cachera, S., Champigneulle, A., Montuelle, B. 2015. Le retour du lavaret : une action

- d'ingénierie écologique réussie à l'échelle d'un lac (Le Bourget). Sciences Eaux & Territoires, INRAE.
- Guiney, P., Peterson, R. 1980. Distribution and Elimination of a Polychlorinated Biphenyl After Acute Dietary Exposure in Yellow Perch and Rainbow Trout. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 9, 667–674.
- Hämäläinen, A.M., Guenther, A., Patrick, S., Schuett, W. 2020. Environmental effects on the covariation among pace-of-life traits. *Ethology*. <https://doi.org/10.1111/eth.13098>
- Hardy, R.S., Litvak, M.K. 2004. Effects of Temperature on the Early Development, Growth, and Survival of Shortnose Sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, and Atlantic Sturgeon, *Acipenser oxyrinchus*, Yolk-Sac Larvae. *Environmental Biology of Fishes* 70, 145–154 . <https://doi.org/10.1023/B:EBFI.0000029345.97187.5b>
- Hayes, R. 1949. The growth, general chemistry, and temperature relations of salmonid egg. *The Quarterly Review of Biology* 24: 281-308.
- Herczeg, G., Ab Ghani, N.I., Merila, J., 2013. Evolution of stickleback feeding behaviour: genetics of population divergence at different ontogenetic stages. *Journal of Evolutionary Biology* 26, 955-962.
- Herráez, M., Ausió, J., Devaux, A., González-Rojo, S., Fernández-Díez, C., Bony, S., Saperas N., Robles M. 2017. Paternal contribution to development: Sperm genetic damage and repair in fish. *Aquaculture*, 472 : 45-59, ISSN 0044-8486, <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.03.007>.
- Hogan, J. W., Brauhn, J. L. 1975. Abnormal rainbow trout fry from eggs containing high residues of a PCB (Aroclor 1242). *Progressive Fish-Culturist*, 37(4), 229–230. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1975\)37\[229:ARTFFE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1975)37[229:ARTFFE]2.0.CO;2)
- Holm, J., Palace, V., Siwik, P., Sterling, G., Evans, R., Baron, C. 2005. Developmental effects of bioaccumulated selenium in eggs and larvae of two salmonid species. *Environ. Toxicol. Chem.* 2005; 24: 2373–2381. PMID: 16193768.
- Horri, K. 2018. Effets d'une exposition alimentaire chronique à un mélange environnemental de PCB et PBDE sur les traits d'histoire de vie, la bioénergétique et la dynamique des populations de poissons. Ecotoxicologie. Normandie Université, 2018. Français. ffNNT : 2018NORMLH09ff <https://doi.org/10.1890/070037>  
ISSN 0166-445X, <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.09.025>.
- Jackson, M. C., Loewen, C. J. G., Vinebrooke, R. D., CChimimba., T. 2015. Net effects of multiple stressors in freshwater ecosystems: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 22, 180–189 <https://doi.org/10.1111/gcb.13028>.
- Janhunen, M., Piironen, J. and Peuhkuri, N. 2010. Parental effects on embryonic viability and growth in Arctic charr *Salvelinus alpinus* at two incubation temperatures. *Journal of Fish Biology*, 76(10), pp. 2558–2570. doi: 10.1111/j.1095-8649.2010.02648.x.
- Jeuthe, H., Brännäs, E. Nilsson, J. 2015. Thermal stress in Arctic charr *Salvelinus alpinus* broodstock: a 28 year case study, *Journal of Fish Biology*, 86(3), pp. 1139–1152. doi: 10.1111/jfb.12634.
- Jeziorska, B., Ługowska, K., Witeska, M. 2009. The effects of heavy metals on embryonic development of fish (a review). *Fish Physiology and Biochemistry*, 35, 625–640. <https://doi.org/10.1007/s10695-008-9284-4>.
- Johnston, I.A., Temple, G.K. 2002. Thermal plasticity of skeletal muscle phenotype in ectothermic vertebrates and its significance for locomotory behaviour. *J. Exp. Biol.* 205: 2305–2322. PMID:12110664.
- Jones, K.C., de Voogt, P., 1999 Persistent organic pollutants (POPs): state of the science, *Environmental Pollution*, 100 (1–3), 209-221, ISSN 0269-7491, [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00098-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00098-6)
- Jørgensen, C., Fiksen, O. 2006 State-dependent energy allocation in cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 63(1): 186-199. <https://doi.org/10.1139/f05-209>
- Jungwirth, M., Winkler, H. 1984. The temperature dependence of embryonic development of grayling (*Thymallus thymallus*), danube salmon (*Hucho hucho*), artic char (*Salvelinus alpinus*) and brown trout (*Salmo trutta fario*). *Aquaculture*, 38, 315-327.
- Kamler, E. 1992. Early Life History of Fish: an Energetics Approach. London: Chapman & Hall 267 p.
- Kamler, E. 2002. Ontogeny of yolk-feeding fish : an ecological perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12, 79–103. <https://doi.org/10.4324/9781315044569>.

- Keckeis H., Bauer-Nemeschkal E., Menshutkin V.V., Nemeschkal H.L., Kamler E. (2000) Effects of female attributes and egg properties on offspring viability in a rheophilic cyprinid, Chondrostoma nasus. Canadian Journal Fish Aquatic Sciences 57: 789-796
- Kelly, S., Moore, T. N., de Eytos, E., Dillane, M., Goujon, C., Guillard, J., Lasne, E., McGinnity, P., Poole, R., Winfield, I. J., Woolway, R. I., Jennings, E. 2020. Warming winters threaten peripheral Arctic charr populations of Europe. Climatic Change, 163(1), 599–618.  
<https://doi.org/10.1007/s10584-020-02887-z>
- Kihara, M., Ogata, S., Kawano, N., Kubota, I., Yamaguchi, R. 2002. Lordosis induction in juvenile red sea bream, Pagrus major, by high swimming activity. Aquaculture, 212(1–4), 149–158.  
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00871-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00871-7).
- Klemetsen, A., Amundsen, P. A., Dempson, J. B., Jonsson, B., Jonsson, N., O'Connell, M. F., Mortensen, E. 2003. Atlantic salmon *Salmo salar* L., brown trout *Salmo trutta* L. and Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.): A review of aspects of their life histories. Ecology of Freshwater Fish, 12(1), 1–59. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0633.2003.00010.x>
- Klosin, A., Reis, K., Hidalgo-Carcedo, C., Casas, E., Vavouris, T., Lehner, B. 2017. Impaired DNA replication derepresses chromatin and generates a transgenerationally inherited epigenetic memory. Science Advances, 3 (8), doi :10.1126/sciadv.1701143.
- Koolhaas, J.M., Korte, S.M., De Boer, S.F., Van Der Vegt, B.J., Van Reenen, C.G., Hopster, H., De Jong, I.C., Ruis, M.A., Blokhuis, H.J., 1999. Coping styles in animals: current status in behavior and stress-physiology. Neurosci Biobehav Rev 23, 925-935.
- Koumoundouros, G., Divanach, P., Anezaki, L., and Kentouri, M. 2001. Temperature-induced ontogenetic plasticity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Mar. Biol. 139: 817–830.  
doi:[10.1007/s002270100635](https://doi.org/10.1007/s002270100635).
- Kurokawa, T., Shibahara, H., Gen, K., Nomura, K., Tanaka, H., 2013. Determination of periods of sensitivity to low-salinity and low-temperature conditions during the early development of cultured Japanese eel *Anguilla japonica* larvae with respect to the rate of morphological deformity at completion of yolk resorption. Fisheries Science, 79, 673–680.
- Laetz, C. A., Baldwin, D. H., Hebert, V. R., Stark, J. D., Scholz, N. L. 2014. Elevated temperatures increase the toxicity of pesticide mixtures to juvenile coho salmon. Aquatic Toxicology, 146, 38–44. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.10.022>.
- Lahnsteiner, F. 2012. Thermotolerance of brown trout, *Salmo trutta*, gametes and embryos to increased water temperatures. Journal of Applied Ichthyology, 28, 745–751
- Lahnsteiner, F., Mansour, N. 2012. The effect of temperature on sperm motility and enzymatic activity in brown trout *Salmo trutta*, burbot *Lota lota* and grayling *Thymallus thymallus*. Journal of Fish Biology. 81: 197-209.
- Lamy, J. B., Plomion, C., Kremer, A., Delzon, S. 2012. QST< FST As a signature of canalization, Molecular Ecology, 21(23), pp. 5646–5655. doi: 10.1111/mec.12017.
- Lapointe, D., Pierron, F., Couture, P. 2011. Individual and combined effects of heat stress and aqueous or dietary copper exposure in fathead minnows (*Pimephales promelas*). Aquat. Toxicol., vol. 104, no. 1–2, pp. 80–85.
- Lavergne, E., Pedron, N., Calves, I., Claireaux, G., Mazurais, D., Zambonino-Infante, J., Le Bayon, N., Cahu, C., Laroche, J. 2015. Does the chronic chemical contamination of a European flounder population decrease its thermal tolerance?, Mar.Pollut. Bull., vol. 95, no. 2, pp. 658–64.
- Lawrence, A. J., Hemingway, K. 2003. Effects of pollution on fish: Molecular effects and population responses. Boock: Blackwell publishing.
- Letcher, R. J., Bustnes, J. O., Dietz, R., Jenssen, B. M., Jørgensen, E. H., Sonne, C., Verreault, J., Vijayan, M. M., Gabrielsen, G. W. 2010. Exposure and effects assessment of persistent organohalogen contaminants in arctic wildlife and fish. Science of the Total Environment, 408(15), 2995–3043. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.10.038>.
- Levin, E.D., Bencan, Z., Cerutti, D.T. 2007. Anxiolytic effects of nicotine in zebrafish. Physiol Behav 90, 54-58.
- Linares-Casenave, J., Werner, I., Van Eenennaam, J. P., Doroshov, S. I. 2013. Temperature stress induces notochord abnormalities and heat shock proteins expression in larval green sturgeon (*Acipenser medirostris* Ayres 1854). Journal of Applied Ichthyology, 29(5), 958–967.  
<https://doi.org/10.1111/jai.12220>.

- Löffler, J., Ott, A., Ahnelt, H., Keckeis, H. 2008. Early development of the skull of *Sander lucioperca* (L.) (Teleostei: Percidae) relating to growth and mortality. *Journal of Fish Biology*, 72(1), 233–258. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2007.01699.x>
- Lombó, M., Fernández-Díez, C., González-Rojo, S., Navarro, C., Robles, V., Paz Herráez, M. 2015. Transgenerational inheritance of heart disorders caused by paternal bisphenol A exposure, *Environmental Pollution*, 206 : 667-678, ISSN 0269-7491, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.08.016>.
- Lyche, J. L., Nourizadeh-Lillabadi, R., Almaas, C., Stavik, B., Berg, V., Skåre, J. U., Alestrøm, P. Ropstad, E. 2010. Natural mixtures of persistent organic pollutants (POP) increase weight gain, advance puberty, and induce changes in gene expression associated with steroid hormones and obesity in female zebrafish. *Journal of Toxicology and Environmental Health. Part A* 73(15): 1032-1057.
- Lyn Fjellner., K. 2020 Early life stress and telomere length in cichlids. A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science Department of Psychology from the University of Alberta Research Ethics Board, Project Name “Early-life stress and Telomere length”, AUP00000055, 11/24/2017.
- Ma, J., Hung, H., Tian, C., Kallenborn, R. 2011. Revolatilization of persistent organic pollutants in the Arctic induced by climate change. *Nature Climate Change*, 1(5), 255–260. <https://doi.org/10.1038/nclimate1167>.
- Marabini, L., Calò, R., Fucile, S. 2011. Genotoxic effects of polychlorinated biphenyls (PCB 153, 138, 101, 118) in a fish cell line (RTG-2). *Toxicology in Vitro*, 25(5), 1045–1052. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2011.04.004>.
- Marcucella, H., Abramson, C.I. 1978. Behavioral toxicology and teleost fish. *The Behavior of Fish and Other Aquatic Animals* (Ed. D. Mostofsky)
- Mari, L., Daufresne, M., Guillard, J., Evanno, G., Lasne, E. 2021. Elevated temperature and deposited sediment jointly affect early life history traits in 2 southernmost arctic charr populations. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* <https://doi.org/10.1139/cjfas-2020-0256>.
- Marshall, J. D., Uller, T. 2007. When is a maternal effect adaptive?. *Oikos*, 116(12), 1957- 1963.
- McCormick, M. I. 2009. Indirect effects of heterospecific interactions on progeny size through maternal stress. *Oikos*, 118(5), 744-752.
- McGhee, K. E., Pintor, L. M., Suhr, E. L., Bell, A. M. 2012. Maternal exposure to predation risk decreases offspring antipredator behaviour and survival in threespined stickleback. *Functional Ecology*, 26(4), 932-940.
- Meeuwig, I., Bayer, J., Seelye, J. 2013. Effects of temperature on survival and development of early life stage Pacific and Western brook Lampreys. *Transactions of the American Fisheries Society*, 134, 119–127.
- Milla, S., Sambroni, E., Kestemont, P., Jalabert, B. 2011. Effects of mechanical perturbation at various times during incubation on egg survival, hatching and malformation rates in the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, and the influence of post-ovulatory oocyte ageing. *Aquac. Res.* 42: 1061–1065
- Modesto, K. A., Martinez, C. B. R. 2010. Roundup® causes oxidative stress in liver and inhibits acetylcholinesterase in muscle and brain of the fish *Prochilodus lineatus*. *Chemosphere*, 78(3), 294–299. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.10.047>
- Monaghan, P., & Haussmann, M. F. (2015). The positive and negative consequences of stressors during early life. *Early Human Development*, 91(11), 643–647. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.earlhumdev.2015.08.008>
- Monod, G., Keck, G. 1982. PCBs in Lake Geneva (Lake Leman) *Fish Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 29, 570-576.
- Montiglio, P. O., and R. Royaute. 2014. Contaminants as a neglected source of behavioural variation. *Animal Behaviour* 88:29–35.
- Montiglio, P.O., Dammhahn, M., Messier, G.D., Reale, D., 2018. The pace-of-life syndrome revisited: the role of ecological conditions and natural history on the slowfast continuum. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 72.
- Moore, J., Harris, L.N., Le Luyer, J., Sutherland, B., Rougemont, Q., Tallman, R., Fisk, A., Bernatchez, L. 2017. Migration Harshness Drives Habitat Choice And Local Adaptation In Anadromous Arctic Char: Evidence From Integrating Population Genomics And Acoustic Telemetry, bioRxiv. doi: 10.1101/138545.

- Naffrechoux, E., Ferrari, B., Lyautey, E., Perga, M.-E., Cottin, N., Fanget, P., Cachera, S. 2017. Quantification des effets de la restauration d'un écosystème lacustre contaminé par des polluants organiques persistants Application à la pollution aux PCB du Lac du Bourget. Action n°48 du programme 2015 au titre de l'accord-cadre Agence de l'eau RMC – ZABR. Rapport final. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25256.47366>.
- Nakayama, K., Oshima, Y., Hiramatsu, K. et Honjo, T. 2004. Alteration of general behavior of male medaka, *Oryzias latipes*, exposed to Tributyltin and/or Polychlorinated Biphenyls. *Journal of Faculty of Agriculture, Kyushu University*, 49:85–92.
- Nfon, E., Cousins, I. T. 2006. Interpreting time trends and biomagnification of PCBs in the Baltic region using the equilibrium lipid partitioning approach. *Environmental Pollution*, 144(3), 994–1000. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.01.042>.
- Noury, P. ,2016. Dosage de l'activité enzymatique Super Oxyde Dismutase (SOD) sur microplaque. pp.13. HAL Id: hal-02602440, <https://hal.inrae.fr/hal-02602440>.
- Noury, P. 2016b. Dosage en microplaque de l'activité enzymatique AChE du gammare. HAL Id: hal-02602445, <https://hal.inrae.fr/hal-02602445>.
- Nyholm, J.R., Norman, A., Norrgren, L., Haglund, P., Andersson, P.L. 2008. Maternal transfer of brominated flame retardants in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*. 73: 203–208.
- Ojanguren, A.F., Braña, F. 2003. Thermal dependence of embryonic growth and development in brown trout. *Journal of Fish Biology*, 62, 580–590.
- Olsson, P.-E., Westerlund, L., Teh, S. J., Billsson, K., Berg, A. H., Tysklind, M., Nilsson, J., Eriksson, L.-O. et Hinton, D. E. 1999. Effects of maternal exposure to estrogen and PCB on different life stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Ambio*, 28(1):100–106.
- Örn, S., Andersson, P. L., Förlin, L., Tysklind, M., Norrgren, L. 1997. The Impact on Reproduction of an Orally Administered Mixture of Selected PCBs in Zebrafish (*Danio rerio*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 35, 52–57.
- Osse, J.W.M., Van Den Boogaart, J.G.M. 1995. Fish larvae, development, allometric growth, and the aquatic environment. *ICES marine Science Symposium* 201: 21-34.
- Øverli, Ø., Pottinger, T.G., Carrick, T.R., Overli, E., Winberg, S., 2001. Brain monoaminergic activity in rainbow trout selected for high and low stress responsiveness. *Brain Behav Evolut* 57, 214-224.
- Øverli, Ø., Sorensen, C. 2016. On the Role of Neurogenesis and Neural Plasticity in the Evolution of Animal Personalities and Stress Coping Styles. *Brain Behav Evolut* 87, 167-174.
- Øverli, Ø., Sorensen, C., Pulman, K.G., Pottinger, T.G., Korzan, W., Summers, C.H., Nilsson, G.E. 2007. Evolutionary background for stress-coping styles: relationships between physiological, behavioral, and cognitive traits in non-mammalian vertebrates. *Neurosci Biobehav Rev* 31, 396-412.
- Packard, A., Wainwright, A.W. 1974. Brain growth of young herring and trout. In *The early life history of fish*. Edited by J.H.S. Blaxter. Springer-Verlag, Berlin, Germany. pp. 499–507.
- Palace, V. P., Klaverkamp, J. F., Lyle Lockhart, W., Metner, D. A., Muir, D. G. G., Brown, S. B. 1996. Mixed-function oxidase enzyme activity and oxidative stress in lake trout (*Salvelinus namaycush*) exposed to 3,3',4,4'5-pentachlorobiphenyl (PCB-126). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(6), 955–960. <https://doi.org/10.1002/etc.5620150618>
- Paterson, G., Drouillard, K., Leadley, T., Haffner, D..2007 Long-term polychlorinated biphenyl elimination by three size classes of yellow perch (*Perca flavescens*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 64(9): 1222-1233. <https://doi.org/10.1139/f07-088>
- Patra, R. W., Chapman, J. C., Lim, R. P., Gehrke, P. C. 2007. The effect of three organic chemicals on the upper thermal tolerances of four freshwater fishes. *Environ. Toxicol. Chem.*, vol. 26, no. 7, p. 1454.
- Péan, S., Daouk, T., Vignet, C., Lyphout, L., Leguay, D., Loizeau, V., Bégout, M.-L., Cousin, X. 2013. Long-term dietary-exposure to non-coplanar PCBs induces behavioural disruptions in adult zebrafish and their offspring. *Neurotoxicology and Teratology*. 39: 45–56.
- Peck M., Kanstinger P., Holste L., Martin M. (2012) Thermal windows supporting survival of the earliest life stages of Baltic herring (*Clupea harengus*). *Journal of Marine Science* 69: 529- 536.
- Peiman., KS, Robinson., BW. 2017. Comparative analyses of phenotypic trait covariation within and among populations. *Am Nat* 190: 451–468.
- Pepin, P., Orr, D. C., Anderson, J. T. 1997. Time to hatch and larval size in relation to temperature and egg size in atlantic cod (*Gadus morhua*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 54, 2–

10. <https://doi.org/10.1139/cjfas-54-s1-2>.
- Polverino, G., Cigliano, C., Nakayama, S., Mehner, T., 2016. Emergence and development  
Pörtner, H. O., Peck, M. A. 2010. Climate change effects on fishes and fisheries: towards a cause-and-effect understanding. *Journal of Fish Biology.* 77: 1745-1779.
- Quabius, E. S., Balm, P. H. M., Wendelaar Bonga, S. E. 1997. Interrenal stress responsiveness of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) is impaired by dietary exposure to PCB 126. *General and Comparative Endocrinology*, 108(3), 472–482. <https://doi.org/10.1006/gcen.1997.7003>.
- Réale D., Garant D., Humphries MM., Bergeron P., Careau V., Montiglio PO. 2010. Personality and the emergence of the pace-of-life syndrome concept at the population level. *Phil Trans R Soc B.* 365:4051–4063.
- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T., Dingemanse, N.J. 2007. Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society* 82, 291-318 .
- Réalis-Doyelle, E., Pasquet, A., De Charleroy, D., Fontaine, P., Teletchea, F. 2016. Strong Effects of Temperature on the Early Life Stages of a Cold Stenothermal Fish Species, Brown Trout (*Salmo trutta* L.). *PLoS ONE* 11(5): e0155487. doi:10.1371/journal.pone.0155487.
- Réalis-Doyelle, E., Cottin, N., Daufresne, M., Naffrechoux, E., Reynaud, S., Guillard, J. 2023 Evolution of pace-of-life syndrome under conditions of maternal PCB contamination and global warming in early life stages of cold stenothermic fish (Arctic char). *Aquat Toxicol.* 255:106396. doi: 10.1016/j.aquatox.2023.106396.
- Robles, V., Herráez, P., Labbé, C., Cabrita, E., Pšenička, M., Valcarce, M., Riesco, M. 2017. Molecular basis of spermatogenesis and sperm quality, *General and Comparative Endocrinology*, 245 : 5-9,ISSN 0016-6480, <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2016.04.026>.
- Romero, L. M., Dickens, M. J., Cyr, N. E. 2009. The reactive scope model—a new model integrating homeostasis, allostasis, and stress. *Hormones and behavior*, 55(3), 375-389.
- Russo, T., Costa, C., Cataudella, S. 2007. Correspondence between shape and feeding habit changes throughout ontogeny of gilthead sea bream *Sparus aurata* L., 1758. *J. Fish Biol.* 71: 629–656. doi:10.1111/j.1095-8649.2007.01528.x.
- Sæther, B.S., Siikavuopio, S.I., Jobling, M. 2016. Environmental conditions required for intensive farming of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* (L.)). *Hydrobiologia* 783(1): 347– 359. Springer International Publishing. doi:10.1007/s10750-015-2572-y.
- Sanders, B. M., Martin, L. S. 1994. Copper inhibits the induction of stress protein synthesis by elevated temperatures in embryos of the sea urchin *Strongylocentrus purpuratus*. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.*, vol. 109, no. 3, pp. 295–307.
- Schmidt, K., Staaks, G. B. O., Pflugmacher, S., Steinberg, C. E. W. 2005. Impact of PCB mixture (Aroclor 1254) and TBT and a mixture of both on swimming behavior, body growth and enzymatic biotransformation activities (GST) of young carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, 71(1):49–59.
- Schnorr, S.J., Steenbergen, P.J., Richardson, M.K., Champagne, D.L. 2012. Measuring thigmotaxis in larval zebrafish. *Behaviour Brain Research* 228, 367-374.
- Schultz, A., Bonar, S. 2009. Growth and survival of larval and juvenile Gila chub at different temperatures. *North American Journal of Aquaculture*, 71, 1-5.
- Scott, G.R., Slowman, K.A. 2004. The effects of environmental pollutants on complex fish behaviour: integrating behavioural and physiological indicators of toxicity. *Aquat. Tox.* 68: 369–392.
- Sfakianakis, D. G., Georgakopoulou, E., Papadakis, I. E., Divanach, P., Kentouri, M., & Koumoundouros, G., 2006. Environmental determinants of haemal lordosis in European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758). *Aquaculture*, 254(1–4), 54–64.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2005.10.028>
- Sheriff, M. J., Love, O. P. 2013. Determining the adaptive potential of maternal stress. *Ecology letters*, 16(2), 271-280.
- Silva, P.I.M., Martins, C.I.M., Engrola, S., Marino, G., Øverli, Ø., Conceição, L.E.C.,2010. Individual differences in cortisol levels and behaviour of Senegalese sole (*Solea senegalensis*) juveniles: Evidence for coping styles. *Applied Animal Behaviour Science* 124, 75-81.
- Simonovic, P.D., Garner, P., Eastwood, E.A., Kovac, V. Copp, G. H. 1999 . Correspondence between ontogenetic shifts in morphology and habitat use in minnow *Phoxinus phoxinus*. *Environnemental Biology of Fish*, 56, 117–128.

- Sokolova, I. M., Frederich, M., Bagwe, R., Lannig, G., Sukhotin, A. a. 2012. Energy homeostasis as an integrative tool for assessing limits of environmental stress tolerance in aquatic invertebrates. *Mar. Environ. Res.*, vol. 79, pp. 1–15.
- Swift, D. 1965. Effect of Temperature on Mortality and Rate of Development of the Eggs of the Windermere Charr (*Salvelinus alpinus*), *Journal Fisheries Research Board of Canada*, 22(4), pp. 913–917.
- Tierney, K.B., Baldwin, D.H., Hara, T.J., Ross, P.S., Scholz, N.L., Kennedy, C.J. 2010. Olfactory toxicity in fishes. *Aquat. Tox.* 96: 2–26.
- Trabelksi A., Gardeur J.N., Teletchea F., Brun-Bellut J. et Fontaine P. 2012, Hatching time effet on the intraspawning larval morphology and growth in Northern pike (*Esox lucius*). *Aquaculture research*, 44, 657-666.
- Treasurer, J. W. 1983. Estimates of egg and viable embryo production in a lacustrine perch, *Perca fluviatilis*. *Environmental Biology of Fishes*, 8(1): 3–16. <https://doi.org/10.1007/BF00004941>
- Triebeskorn, R., Köhler, H.-R., Honnen, W., Schramm, M., Adams, S. M., Müller, E. F. 1997. Induction of heat shock proteins, changes in liver ultrastructure, and alterations of fish behavior: Are these biomarkers related and are they useful to reflect the state of pollution in the field? *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery (Formerly Journal of Aquatic Ecosystem Health)*, 6(1):57–73.
- Urho, L. 2002. Characters of larvae - what are they? *Folia Zoologica*, pp. 161-186.
- Valcarce, D., Vuelta, E., Robles, V., Herráez, M. 2017. Paternal exposure to environmental 17-alpha-ethinylestradiol concentrations modifies testicular transcription, affecting the sperm transcript content and the offspring performance in zebrafish, *Aquatic Toxicology*, 193 : 18-29.
- van Raaij, M.T., Pit, D.S., Balm, P.H., Steffens, A.B., van den Thillart, G.E., 1996. Behavioral strategy and the physiological stress response in rainbow trout exposed to severe hypoxia. *Horm Behav* 30: 85-92.
- Verbeek, M.E.M., Boon, A., Drent, P.J. 1996. Exploration, aggressive behavior and dominance in pair-wise confrontations of juvenile mâle great tits. *Behaviour* 133, 945- 963
- Vernier J.M. 1969. Table chronologique du développement embryonnaire de la truite arc-en-ciel, *Salmo gairdneri* Rich. *Ann. Embryol. Morphogenet.* 2, 495-520.
- Viant, M. R., Werner, I., Rosenblum, E. S., Gantner, A. S., Tjeerden, R. S., Johnson, M. L. 2003. Correlation between heat-shock protein induction and reduced metabolic condition in juvenile steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) chronically exposed to elevated temperature. *Fish Physiology and Biochemistry*, 29(2), 159–171. <https://doi.org/10.1023/B:FISH.0000035938.92027.81>
- Vijayan, M. M., Aluru, N., Maule, A.G., Jørgensen, E. H. 2006. Fasting Augments PCB Impact on Liver Metabolism in Anadromous Arctic Char. *Toxicological Sciences*, Volume 91, Issue 2, June 2006, Pages 431–439.
- Volkova, K., Reyhanian Caspillo, N., Porseryd, T., Hallgren, S., Dinnétz, P., Porsch-Hällström, I. 2015. Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to 17 $\alpha$ -ethinylestradiol affects non-reproductive behavior and fertility as adults, and increases anxiety in unexposed progeny, *Hormones and Behavior*, 73 : 30-38, ISSN 0018-506X, <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.05.014>.
- Williams, J.W., Jackson, S. 2007 Novel climates, no-analog communities, and ecological surprises. *Fontière in ecology and the environnement*, 5(9) : 475-482
- Winfield, I.J., Berry, R., and Iddon, H. 2018. The cultural importance and international recognition of the Arctic charr *Salvelinus alpinus* populations of Windermere, UK. *Hydrobiologia* 6. Springer International Publishing. doi:10.1007/s10750-018-3814-6
- Wood H. 1932. The effect of temperature on the growth and respiration of fish embryos (*Salmo fario*). *The Journal of Experimental Biology*, 9, 271-275.
- Wright., J, Bolstad., GH, Araya-Ajoy., YG, Dingemanse., NJ. 2019. Life-history evolution under fluctuating density-dependent selection and the adaptive alignment of pace-of-life syndromes: pace-of-life syndromes. *Biol Rev* 94: 230–247
- Yu, L., Lam, J.C.W., Guo, Y., Wu, R.S.S., Lam, P.K.S., Zhou, B. 2011. Parental Transfer of Polybrominated Diphenyl Ethers (PBDEs) and Thyroid Endocrine Disruption in Zebrafish. *Environ. Sci. Technol.* 45 : 10652–10659.
- Zhang, J., Zhang, H., Ni, W. 2009. Oxidative stress and apoptosis of *Carassius auratus* lymphocytes induced by nonplanar (PCB153) and coplanar (PCB169) polychlorinated biphenyl congeners in vitro. *Journal of Environmental Sciences*, 21(9), 1284–1289. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(08\)62416-6](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(08)62416-6)

X.

Zhou, Q., Li, H., Li, H., Nakagawa, A., Lin, J.L.J., Lee, E.S., Harry, B.L., Skeen-Gaar, R.R., Suehiro, Y., William, D., et al. (2016). Mitochondrial endonuclease G mediates breakdown of paternal mitochondria upon fertilization. *Science* 353, 394–399.

Zick, D., Gassner, H., Rinnerthaler, M., Jäger, P., Patzner, R. A. 2007. Application of population size structure indices to Arctic charr *Salvelinus alpinus* (L.) in Alpine lakes in Austria. *Ecology of Freshwater Fish*, 16(1), 54–63. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0633.2006.00168.x>.

## VIII. Valorisation

Cette étude a fait l'objet d'une valorisation orale.

\* indique l'orateur

Emilie Réalis-Doyelle\* ; Emmanuel Naffrechoux, Stephane Reynaud, Rmoane Morati, Jean Guillard. 2022. Effets d'une contamination parentale aux PCB et du changement climatique sur un poisson sténotherme froid. Congrès international SEFA (Valence)

Emilie Réalis-Doyelle\* ; Emmanuel Naffrechoux, Stephane Reynaud, Rmoane Morati, Jean Guillard. 2022. Synergistic effect of paternal pcb contamination and climate change on a cold stenothermic fish, arctic char. Congrès international INTERCOL (Genève).