

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

IMPACT DU SUBSTRAT ET DE LA PHOTOPÉRIODE SUR DES JUVÉNILES
DE PLIE ROUGE *PSEUDOPLEURONECTES AMERICANUS*

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

comme exigence partielle de la Maîtrise es Sciences en Océanographie

PAR

SYLVAIN JOLY

Octobre 2004

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

It don't mean a thing, if it ain't got that swing...

REMERCIEMENTS

Bon alors voilà la fameuse section qui sert à remercier toutes celles et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin, voire de très loin - au sens figuré comme au sens propre - à l'aboutissement de ce mémoire.

Par respect, mais également par honnêteté, je voudrais remercier en premier, Céline Audet, ma directrice de recherche, qui m'a proposé un projet intéressant et stimulant. Enfin devrais-je dire des projets si l'on tient compte des multiples changements survenus. Grâce à Céline, j'ai beaucoup appris sur la rigueur scientifique tant à la station aquicole, qu'au labo, ou encore durant la rédaction. Je tiens à la remercier également pour sa disponibilité (presque !) sans limite, et la confiance qu'elle m'a accordée pour mener ce travail à terme. Bref, merci pour toute l'expérience dont j'ai pu m'enrichir au cours de ces deux années.

Un grand merci aussi à Yvan Lambert, mon co-directeur, pour ses conseils pertinents, ses corrections judicieuses et tout son apport « logistique ». Merci pour m'avoir encouragé à produire un travail de qualité et incité à écrire mes travaux dans la langue de Shakespeare.

Un immense Merci, avec un grand **M**, à Nathalie Morin pour toute l'aide technique que j'ai pu recevoir durant mon travail à la station aquicole, mais également pour s'être occupée de mes « bébés plies » à la fin de l'été. Un autre grand merci à France Béland pour son assistance à l'Institut Maurice-Lamontagne. Merci tout particulier à Réal Fournier pour ses conseils et surtout pour le prêt du matériel sans lequel je serai encore en train de faire la surveillance de baignade de

plie rouge au port de Pointe-au-Père !!! Merci à Robert Vaillancourt pour avoir produit et entretenu en nombre suffisant (OUF !!!) des milliers de larves ayant par la suite survécu à mes sévices de tout premier « papa-plie ». Je voudrai remercier également « MonSeigneur Benjamin Laplatte » qui a participé lui aussi à la bonne survie de ces fameux « bébés ». Merci à Hugo sans qui j'aurai passé le double de temps à prendre les « mensurations » des poissons.

Je voudrais remercier également toutes les institutions qui m'ont aidé à réaliser mon projet dans de bonnes conditions financières : l'ISMER, le Ministère des Pêches et des Océans Canada, ainsi que le Conseil des Recherches en Pêche et en Agroalimentaire du Québec (n°100113).

Je pense avoir fait pas mal le tour de toutes les personnes qui ont contribué directement à l'aboutissement de ce travail dans les conditions optimales. Alors je vais pouvoir passer aux autres, les amies et amis, la famille, les proches, les connaissances, qui viennent en dernier mais ne sont pas les moindres : alors dans le désordre avec le numéro complémentaire en dernier, BIG merci à Lorenzo et Cora, Karinette, Florette et Didi, Andy et Simon sans Garfunkel, Dominique et Fred le chasseur, Seb, Christine, Johann, Kiki, Nico, Pascal, Fred et Moe et Adam le p'tit nouveau, Estellou, Gitanou, Marie-Joëlle, Annie et JB « tonnerre mécanique », Aurélie la plie (merci beaucoup), Phébée, Marina et Chessmaster Charlie avec leur merveilleuse Melissa, Karar, Marc-André, les cafés et thés de la Brûlerie, les bières pas onéreuses pantoute (!) du Baro, la neige et les rigueurs de l'hiver, Joël le Swingeux, ma Famille Swing, ma vraie famille de sang, c'est-à-dire mes parents qui ont su m'encourager et m'aider sur tous les plans, le reste de ma famille en France avec leur soutien « postal », pis Julie aussi.

RÉSUMÉ

La plie rouge *Pseudopleuronectes americanus* est une espèce côtière qui pourrait avoir un grand potentiel dans le développement de l'aquaculture au Canada Atlantique. Dans le but d'optimiser les conditions d'élevages intensifs, nous avons évalué dans une première partie, l'impact du substrat sur la croissance, la survie et la condition générale des néo juvéniles de plie rouge nouvellement déposés ; alors que dans une seconde partie, nous avons testé les effets d'une photopériode allongée sur la croissance (masse, longueur et largeur) de juvéniles sauvages beaucoup plus âgés. L'utilisation de sédiments dans une optique aquacole n'a quasiment jamais été envisagée en raison des difficultés, *a priori*, de maintenir un milieu propre et normoxique. Dans le milieu naturel, les juvéniles de poissons plats sont fortement associés à un substrat particulier et les études en laboratoire ont démontré leur capacité de sélection vis-à-vis d'un choix multiple de sédiments. Nous avons donc émis l'hypothèse que différents types de sédiments peuvent engendrer une survie et des croissances différentes. De l'argile (diamètre moyen des particules < 15 microns), du sable fin ($d < 500$ microns) et du sable grossier ($d < 1$ mm) ont été utilisés lors de cette expérience, qui a été menée sur deux sites expérimentaux, la station aquicole de Pointe-au-Père (site 1) et l'institut Maurice-Lamontagne (site 2) (Québec). Après huit semaines d'expérience, la survie, largement supérieure au site 1 (37% contre 15%), était meilleure sur le sable fin et sur l'argile respectivement aux sites 1 et 2. La croissance n'a pas été influencée par le type de sédiment au site 1, alors qu'au site 2, où la croissance était nettement inférieure par rapport au précédent site, les juvéniles élevés sur les deux substrats sableux ont montré une meilleure croissance comparée à l'argile. Les indices biochimiques (ARN/ADN et ARN/protéines) nous ont révélé la très bonne condition de nos juvéniles entre le début et la fin de

l'expérience, malgré la transition délicate que représente la métamorphose. Par ailleurs nous avons confirmé la présence d'une période critique, en terme de mortalités importantes, dans les trois semaines suivant la déposition des juvéniles sur le fond des bassins.

L'allongement de la photopériode permettrait d'augmenter la croissance des individus lorsque les conditions environnementales saisonnières sont moins favorables. Nous avons comparé la croissance de juvéniles sauvages élevés sous photopériode constante (16L:8N) et naturelle entre le 26 mai et le 27 juillet 2003. Les deux groupes ont accru leur masse de manière significative entre le début et la fin de l'expérience. Cependant aucune différence n'a pu être détectée entre les deux groupes, tant pour la croissance en longueur, qu'en largeur ou en masse.

TABLES DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	i
RÉSUMÉ	iii
TABLES DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES TABLEAUX	viii
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES FIGURES	ix
CHAPITRE 1.....	1
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1.1 Biologie de l'espèce	1
1.1.1 Généralités	1
1.1.2 La métamorphose, une phase critique	2
1.2 Mise en contexte de l'aquaculture	4
1.2.1 Le potentiel aquacole de la plie rouge	4
1.2.2 Les facteurs environnementaux	5
1.3 Problématique	7
1.3.1 Élevage des néo-juvéniles	7
1.3.2 Élevage des juvéniles sauvages	9
1.4 Objectifs de travail	10
CHAPITRE 2.....	12
DOES SEDIMENT TYPE AFFECT GROWTH AND SURVIVAL OF NEWLY SETTLED JUVENILE WINTER FLOUNDER?.....	12
ABSTRACT	13

2.1 INTRODUCTION	14
2.2 MATERIALS & METHODS	16
2.2.1 Study sites	16
2.2.2 Fish collection	16
2.2.3 Experimental conditions	17
2.2.4 Feeding	17
2.2.5 Sampling	18
2.2.6 Biochemical analyses	19
2.2.7 Statistical analysis	19
2.3 RESULTS	21
2.3.1 Survival.....	21
2.3.2 Morphometric measurements	21
2.3.3 Nucleic acid and protein contents.....	25
2.3.4 Erosion and pigmentation.....	27
2.4 DISCUSSION.....	30
CHAPITRE 3.....	37
CROISSANCE DES JUVÉNILES SAUVAGES	37
SOUS DEUX RÉGIMES DE PHOTOPÉRIODE.....	37
3.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES	38
3.1.1 Acquisition des poissons	38
3.1.2 Protocole expérimental	38
3.1.3 Plan d'échantillonnage	39
3.1.4 Traitement des données	39
3.2 RÉSULTATS ET DISCUSSION	40

CONCLUSION GÉNÉRALE	43
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	44
RÉFÉRENCES ÉLECTRONIQUES	59
ANNEXE.....	60

LISTE DES TABLEAUX

Table 1	Overall survival (%) in each experimental tank for each site on day 57.....	22
Table 2	Specific growth rate per day (%) in total length and width for each sediment type at the two study sites.....	24
Table 3	Nucleic acid and protein concentrations of juvenile winter flounder for the different sampling dates during the experiment.	26

LISTE DES FIGURES

Figure 1	Variations in total length and width (mean \pm S.D.) of juvenile winter flounder reared in site 1 (A and B) and site 2 (C and D).....	23
Figure 2	Variations of RNA/DNA ratio (A) and RNA/protein ratio (B) (mean \pm S.D.) over time in newly settled juvenile winter flounder reared on fine sand.....	28
Figure 3	Temporal variations of the erosion index among sediment treatments at site 1 (A) and site 2 (B).....	29
Figure 4	Croissance en masse des juvéniles sauvages au cours de la période estivale.....	41

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 Biologie de l'espèce

1.1.1 Généralités

La plie rouge, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum), est un poisson plat necto-benthique appartenant à la famille des Pleuronectidae (Scott & Scott, 1988). Cette espèce côtière est présente sur l'ensemble du littoral est du continent nord-américain, du Labrador jusqu'à la Géorgie (Bigelow & Schroeder, 1953 ; Pereira *et al.*, 1999). Dans l'estuaire maritime du Saint-Laurent, la plie rouge fréquente la zone intertidale au printemps afin de se reproduire et trouver une nourriture abondante (Vaillancourt *et al.*, 1985). Elle s'éloignerait progressivement de la côte au cours de l'été et demeurerait dans des eaux entre 20 et 40 m durant l'hiver (Vaillancourt, communication personnelle). Les schémas de migration de cette espèce sont très complexes et semblent dictés par les conditions thermiques locales, mais également par la disponibilité de nourriture et l'état de maturation des gonades (Van Guelpen & Davis, 1979). La plie rouge fréquente généralement les fonds à substrats meubles à modérément durs et ne dépasse que très rarement les profondeurs au-delà de 40 m (Scott & Scott, 1988). Malgré un régime alimentaire de type omnivore, l'alimentation chez les populations de l'estuaire du Saint-Laurent est principalement composée d'espèces de la macrofaune benthique, notamment, de polychètes *Nereis virens*, d'amphipodes *Gammarus oceanicus* et de siphons de *Mya arenaria* (Vaillancourt,

1982). La maturité sexuelle des adultes intervient au bout de trois à quatre ans (Pitt, 1990). Les adultes sont en condition de reproduction à partir du mois de novembre aux basses latitudes de la Nouvelle-Angleterre (Scott & Scott, 1988), alors que pour les hautes latitudes comme au Québec et au Nouveau-Brunswick, les adultes matures se reproduisent de mars jusqu'à juin (Litvak, 1999). La plie rouge est une espèce très féconde : les femelles produisent en moyenne 500 000 œufs (Scott & Scott, 1988). Ces œufs éclosent après une période d'incubation de 80 degrés-jours en laboratoire (Litvak, 1999), donnant naissance à des larves pélagiques. Ces larves se nourrissent les premiers jours sur les réserves de leur sac vitellin jusqu'à épuisement, puis passent à une alimentation exogène. Le stade larvaire s'achève à la métamorphose qui intervient en milieu contrôlé au bout de 420 degrés-jours environ après l'éclosion (Chambers *et al.*, 1988).

1.1.2 La métamorphose, une phase critique

Extérieurement la métamorphose se caractérise par la migration de l'œil gauche vers le côté droit de la tête et l'aplatissement du corps dans le plan horizontal. Associés à ces modifications morphologiques, d'importants changements écologiques et comportementaux surviennent. Le plus prononcé est la transition de la vie pélagique à la vie benthique. Ce changement d'habitat induit une modification du régime alimentaire (Yamashita *et al.*, 2001) nécessitant des adaptations métaboliques et anatomiques. La plupart de ces changements ont été décrits chez la plie japonaise *Paralichthys olivaceus* par Tanaka *et al.* (1996). On note ainsi au cours de la métamorphose l'apparition des glandes gastriques, la formation des caeca pyloriques, la transformation de l'épithélium oesophagien, l'élargissement de la vésicule biliaire et l'involution hépato-pancréatique. Ces modifications anatomiques occasionnent une période de jeûne d'environ deux jours pour la plie japonaise (Tanaka *et al.*, 1996). Cette étape spécifique

semble être nécessaire à la réorganisation structurelle et fonctionnelle du système digestif et à l'adaptation à la vie benthique (Yamashita *et al.*, 2001). A la sortie de cette phase, une alimentation rapide des individus est importante afin de rétablir une nutrition normale. Selon Anderson (1988), les conditions d'une nutrition réussie changeraient en fonction de la croissance du poisson et celles-ci seraient critiques au moment de la transition d'une phase du cycle vital à la suivante. Outre l'aspect alimentaire, la métamorphose par le biais du changement d'habitat provoque un important bouleversement d'ordre écologique. Les individus doivent faire face à un nouvel environnement. En milieu naturel, la survie des néo juvéniles dépend fortement des propriétés de la nouvelle niche écologique exploitée. Les juvéniles doivent pouvoir y trouver aisément leur nourriture ainsi que des aires de protection. Les caractéristiques sédimentaires du substrat jouent alors un rôle direct sur la croissance et la survie des juvéniles en fournissant des proies ou des algues adaptées à leur régime alimentaire ainsi qu'une protection contre les prédateurs soit par l'enfouissement dans le sédiment, soit par la présence de coquilles et autres débris de type organique pouvant servir de refuge. Par ailleurs les aires de déposition lors du passage à la vie benthique ne semblent pas être utilisées par les néo juvéniles comme une pouponnière (Curran & Able, 2002), ce qui implique la recherche d'un habitat propice à la croissance et à la survie. Cette recherche entraîne ainsi des coûts énergétiques supplémentaires pouvant avoir des conséquences sur le taux de mortalité, sachant que les individus traversent une phase critique de leur stade vital. Des recherches effectuées par Stoner *et al.* (2001) ont montré que les nurseries des juvéniles de plie rouge durant leur première année n'étaient pas fixes et que leur emplacement dépendait de la taille des poissons. Cette recherche constante d'un habitat optimal illustre parfaitement les changements des besoins suivant le développement. Le facteur sédimentaire semble ainsi être un facteur environnemental primordial sur la survie et la distribution des néo juvéniles de plie rouge. Au cours de la métamorphose les juvéniles font donc

face à deux problèmes majeurs interdépendants : la recherche d'un habitat spécifique et le changement de régime alimentaire induit par le passage du milieu pélagique au milieu benthique.

1.2 Mise en contexte de l'aquaculture

Suite à l'augmentation de la concurrence internationale à la fin du vingtième siècle, l'industrie du saumon Atlantique canadien a connu une dévaluation du prix de sa marchandise (Litvak, 1999). Afin de faire face à ce problème, l'industrie aquacole du Canada Atlantique a cherché à diversifier sa production en tentant de trouver de nouvelles espèces piscicoles économiquement exploitables, s'adaptant bien aux conditions de culture, ayant une croissance rapide et tolérantes aux faibles températures de nos régions. La plie rouge semble répondre à ces différents critères de sélection.

1.2.1 Le potentiel aquacole de la plie rouge

La plie rouge est à la fois eurytherme et euryhaline (Pearcy, 1961 ; Litvak, 1999). Elle possède des protéines antigels plasmatiques lui permettant de résister à des températures inférieures à -1°C (Duman & De Vries, 1974; Fletcher, 1977). La régulation saisonnière des concentrations plasmatiques en protéines antigels est en corrélation directe avec la photopériode et la température de l'eau (Davies *et al.*, 1988). Cette résistance aux très froides températures lui procure un avantage certain par rapport à d'autres espèces sténothermes, permettant notamment d'accroître les sites potentiels d'élevage le long de la côte est canadienne. De plus, les filets de plie rouge sont les plus épais parmi les différentes espèces de plies communes au littoral nord américain (Bigelow & Schroeder, 1953). D'après une compilation des taux de croissance (masse et

longueur) à la fois chez des individus élevés en bassin et des individus sauvages, réalisée par Litvak (1999), la croissance serait plus rapide en laboratoire. Enfin la valeur marchande des filets de plie rouge est comparable à celles d'autres espèces de poissons plats ou encore de la morue franche *Gadus morhua* (National Marine Fisheries Service's - Fishery Market News, 2003).

1.2.2 Les facteurs environnementaux

La compréhension des impacts des différents facteurs environnementaux sur les processus métaboliques du poisson permet de trouver les conditions propices à une croissance optimale des individus. L'alimentation, principal facteur contrôlant la croissance, mérite sans aucun doute une attention toute particulière. Les nombreuses recherches dans ce domaine ont permis d'accumuler des informations essentielles. Une alimentation adéquate maximise le taux de croissance et améliore l'efficacité nutritionnelle (Fredette *et al.*, 2000). Le défi consiste donc à améliorer les conditions d'alimentation actuelles des juvéniles, qui sont pour l'instant basées sur le régime larvaire. En milieu naturel, les caractéristiques sédimentaires du substrat influencent directement la distribution et le comportement chez les poissons benthiques. A ce jour, l'utilisation de sédiments dans une perspective d'élevage de poissons plats, n'a pas encore été recensée même si de nombreuses expériences ont montré l'importance du substrat en milieu naturel et son impact éthologique sur les juvéniles en milieu contrôlé. Ces études étaient principalement axées sur la distribution et l'abondance des poissons en fonction de la taille des particules qui composent le substrat (Howell *et al.*, 1999 ; Amezcua & Nash, 2001 ; Phelan *et al.*, 2001 ; Stoner *et al.*, 2001 ; Curran & Able, 2002 ; Stoner & Abookire, 2002). D'autres portaient la préférence sédimentaire des juvéniles selon leur taille et celle des particules, en testant notamment les capacités d'enfouissement (Gibson & Robb, 1992, 2000 ; Keefe & Able, 1994 ; Moles & Norcross, 1995 ;

Phelan *et al.*, 2001 ; Stoner & Abookire, 2002 ; Stoner & Ottmar, 2003). Les poissons benthiques ont développé au cours de leur évolution des adaptations spécifiques à cet environnement particulier. L'exemple le plus flagrant est la stratégie de mimétisme développée entre autres par les poissons plats. Cette adaptation leur permet d'une part de se camoufler lors de la chasse et d'autre part de se protéger contre la prédation. Dans les systèmes d'élevage, une reconstitution fidèle du milieu naturel de l'espèce serait difficilement applicable d'un point de vue pratique. Par contre, l'ajout de sédiments similaires à ceux retrouvés dans leur environnement pourrait probablement avoir un impact sur la croissance et la survie des individus. L'amélioration de la croissance induite par l'ajout d'un substrat adéquat serait obtenue via un mode d'action influençant le métabolisme de base des juvéniles, tel que démontré chez la lotte *Lota lota* (Fischer, 2000a; b).

Outre l'alimentation et le facteur sédimentaire, la photopériode est considérée comme un signal environnemental majeur contrôlant une variété de processus saisonniers, dont le taux de croissance. L'augmentation de la durée de la phase lumineuse dans une journée permet pour des chasseurs visuels, une augmentation de la période de chasse et donc de l'alimentation (Hart *et al.*, 1996). Woiwode et Adelman (1991) ont montré chez le juvénile hybride de bar (*Morone saxatilis* x *Morone chrysops*) que le taux de croissance augmente significativement avec une photopériode printanière et diminue significativement avec une photopériode automnale. Simensen *et al.* (2000) préconisent d'étudier les effets de la photopériode à différents temps dans l'année et émettent l'hypothèse d'une sensibilité moins prononcée aux régimes continus de lumière en période estivale. Le flétan de l'Atlantique (*Hippoglossus hippoglossus*) montrerait une meilleure croissance durant l'hiver sous un régime continu de lumière comparée à celle sous une photopériode naturelle (Jonassen *et al.*, 2000). Chez les juvéniles, l'ajustement de la phase

lumineuse n'agirait pas seulement par une prise alimentaire accrue, mais également par une meilleure efficacité de la conversion alimentaire (Bœuf & Le Bail, 1999). Selon ces mêmes auteurs, l'utilisation de photopériodes allongées, voire d'un éclairage continu, serait un moyen de compenser l'effet des faibles températures hivernales au niveau des hautes latitudes. Outre l'impact positif sur la croissance, il apparaît que l'extension de la photopériode a un effet négatif seulement sur la maturité des juvéniles de turbot (*Scophthalmus maximus*) mâles (Imstrand *et al.*, 1997). De plus, lors d'une étude sur des juvéniles de morue Atlantique (*Gadus morhua*), Hall (1988) n'a trouvé aucun effet positif de la photopériode sur la croissance totale et sur la consommation de nourriture. Pour expliquer ces résultats, il émet l'hypothèse d'une prédominance d'un rythme endogène par rapport aux facteurs environnementaux.

1.3 Problématique

1.3.1 Élevage des néo-juvéniles

Les études antérieures, réalisées dans notre laboratoire sur des juvéniles récemment métamorphosés, semblent révéler la présence d'une période critique au moment du passage à la vie benthique (Seychelles, 2003), un pic de mortalité étant observé 3 semaines après la métamorphose (De Mongolfier, 2003). A cette période, les juvéniles morts avaient tous une taille comparable entre eux mais inférieure à celle des survivants (De Mongolfier, résultats non publiés). Cette observation pourrait suggérer que les survivants avaient plus de succès dans leur recherche de nourriture. Une des hypothèses pouvant expliquer cette forte mortalité pourrait donc être un problème de disponibilité alimentaire. Aux cours de ces expériences, les juvéniles ont été

sevrés progressivement d'une alimentation mixte, à base de microcapsules (Hatchfry Encapsulon, Grade III : 250-450 microns; Argent Chemical Laboratories) et proies vivantes (artémies), à un aliment sec (HiPro 0.5 gr, Corey Feed, Fredericton NB). Les particules composant ce mélange pourraient avoir un comportement hydrofuge qui aurait interagi sur leur disponibilité. Le sevrage, malgré son impact sur les coûts d'élevage larvaire, possède toutefois un coût biologique en provoquant un stress alimentaire plus ou moins important parmi les individus. Hoornbeek *et al.* (1982) ont réussi à sevrer des juvéniles de plie rouge avec de la moulée sèche, mais les juvéniles mesuraient en moyenne 63.9 mm. Ces tailles correspondent à un âge bien au-delà de la période critique qui se situe plutôt à des tailles entre 8 et 12 mm (De Montgolfier, 2003). Lors d'une seconde étude, Lee & Litvak (1996b) ont réussi à sevrer des juvéniles, récemment métamorphosés, avec deux types de moulée sèche. Ils ont obtenu une survie d'environ 70% à la fin des 37 jours d'expérimentation. Cependant leur expérience a réellement démarré après une période d'acclimatation de deux semaines durant laquelle les juvéniles étaient nourris avec des artémies. Ces données indiqueraient qu'une alimentation de transition avec des proies vivantes est nécessaire et que sa durée dans le temps pourrait influencer la survie des juvéniles au cours de cette étape critique. L'utilisation des artémies au cours du premier mois suivant le passage à la vie benthique serait donc à privilégier. Également, d'autres facteurs, outre l'alimentation, peuvent avoir joué un rôle dans les fortes mortalités observées vers la troisième semaine. Lors des expériences des années précédentes réalisées dans notre laboratoire, les juvéniles étaient disposés dans des bassins « à fond nus », c'est-à-dire sans couche de sédiment. Les seules particules sédimentaires entrant et s'accumulant dans les bassins, provenaient du système d'arrivée d'eau, mais cette accumulation aléatoire et non contrôlée était très faible. Sachant que les jeunes juvéniles montrent des comportements d'enfouissement dans le sédiment aussi bien en laboratoire (Moles & Norcross, 1995) qu'en milieu naturel (Phelan *et al.*, 2001), il serait possible

que la présence de substrat dans le fond des bassins d'élevage ait une influence sur la survie et la croissance des juvéniles en modifiant le métabolisme et les dépenses énergétiques engendrées par les conditions d'élevage. Ce genre de perte énergétique est en général associé à la présence de stress chronique. En aquaculture, le stress chronique est connu pour son impact négatif sur le taux de croissance (Pickering, 1993). Outre les effets sur la croissance, nous avons observé dans notre laboratoire que l'ajout de sable dans le fond des bassins des géniteurs de plie rouge réduisait les infections des nageoires (Audet, communication personnelle). Or, le problème d'érosion des nageoires dans les élevages aquacoles est relié à l'état de stress du poisson (Hoorbeek *et al.*, 1982 ; Plante *et al.*, 2002, 2003). Il semblerait donc que la réduction du stress par l'ajout d'un substrat ait une influence sur la condition générale des individus. Ainsi, la présence d'une couche sédimentaire sur le fond des bassins des juvéniles de plie rouge pourrait avoir un impact direct sur la condition, la croissance et la survie des individus.

1.3.2 Élevage des juvéniles sauvages

Tel que discuté précédemment la photopériode semblerait avoir un impact sur la croissance des individus. A l'approche de l'hiver, les individus réduisent leur consommation alimentaire du fait de la baisse de leur métabolisme basal. Cette réduction est provoquée par la diminution de la température et de la période d'alimentation. Seychelles (2003) émet également l'hypothèse d'un rythme endogène contrôlant la consommation de nourriture, qui s'ajouterait aux facteurs environnementaux. Au cours de l'hiver, les individus vont jusqu'à jeûner, ce qui réduit fortement leur taux de croissance. Cette phase de « latence » alimentaire peut durer plus ou moins longtemps et entraîner à coup sûr un manque à gagner pour les fermes d'élevage aquacole. La

modification de plusieurs paramètres environnementaux tels la température, la salinité ou la photopériode, pourrait permettre d'inhiber cette phase de jeûne au cours de l'hiver.

1.4 Objectifs de travail

Dans une perspective aquacole, les conditions d'élevage doivent permettre une optimisation de la croissance des individus pour qu'ils atteignent une taille commerciale en un minimum de temps et d'investissement. L'objectif principal était d'évaluer l'effet du type de sédiment sur la croissance, la survie, la pigmentation des juvéniles et sur l'érosion des nageoires. La croissance et la survie des juvéniles ont été suivies en regard de l'utilisation de trois types de sédiment différant par leur granulométrie. La taille des particules utilisées est comparable à ce qui est présent sur le terrain pour les « nurseries » de juvéniles de plie rouge. La mise à notre disposition d'un deuxième site d'élevage, nous a permis de comparer la croissance et la survie entre les deux. Mon hypothèse principale est donc : (H1) la croissance et la survie des juvéniles ne varient pas en fonction du type de sédiment utilisé en début de phase benthique. La seconde hypothèse est la suivante : (H2) le patron de pigmentation et l'érosion des nageoires ne sont pas influencés par le type de sédiment utilisé en début de phase benthique.

Dans le deuxième volet de l'étude, nous avons poursuivi les expériences menées précédemment dans notre laboratoire et qui visaient à déterminer l'effet de la photopériode sur le comportement alimentaire et la croissance des juvéniles de plie rouge. Une première étape a été franchie en testant la photopériode du solstice d'été (16L : 8N) *versus* la photopériode naturelle au cours de l'automne 2001 (Seychelles, 2003). Dans le cadre du présent projet, l'impact de la photopériode sur la croissance a été évalué durant la période estivale. De même, l'hypothèse qui

découle est la suivante : (H3) Aucune différence de croissance en masse et en longueur n'est observée chez des juvéniles de terrain élevés sous une photopériode naturelle versus une photopériode constante de solstice d'été, en période estivale.

CHAPITRE 2

DOES SEDIMENT TYPE AFFECT GROWTH AND SURVIVAL OF NEWLY SETTLED JUVENILE WINTER FLOUNDER?

Joly, S., Audet, C. and Lambert, Y.

ABSTRACT

Winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* has great potential as an aquaculture species in Atlantic Canada. The use of sediments in juvenile rearing tanks has never been assessed. In the field, the distribution patterns of juvenile flatfish are associated with sediment properties, and numerous laboratory studies have demonstrated the ability of juveniles to select a specific substrate that may affect their behaviour and metabolism. We hypothesized that different sediment types could promote different growth patterns and survival rates. In our experiment, we tested three types of sediment: commercial clay (particle diameter < 15 microns), fine sand (\leq 500 microns), and medium sand (\leq 1 mm). Experiments were carried out at two sites: one with natural salinity and temperature conditions (site 1) and the other with natural salinity, controlled temperature, and lower turbidity conditions (site 2). After an eight-week trial, survival was more than twice as high at site 1 (37%) than at site 2 (15%). The survival was higher on fine sand at site 1 and on the clay substrate at site 2. Growth was not significantly different between sediment types at site 1 (0.17 mm d^{-1}) whereas improved growth was observed in the two sand substrates at site 2 (0.12 mm d^{-1}). The RNA/DNA and RNA/protein ratios also indicated differences in growth patterns between sites, and the ratios at the end of the experiment generally indicated that the juveniles had a good nutritional status. A critical period indicated by numerous mortalities following settlement was observed at the early juvenile stage. This event might correspond to the completion of metamorphosis for those juveniles who survived.

2.1 INTRODUCTION

Sediment structure plays a major role in the distribution pattern of juvenile flatfish. Sediments can provide both food resources and protection against predators (Phelan *et al.*, 2001). As for many flatfish species, juvenile winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* distribution has been related to sediment grain size in the environment (Howell *et al.*, 1999; Phelan *et al.*, 2001). A positive correlation between body size and sediment grain size demonstrated the ability of juvenile plaice *Pleuronectes platessa* to select particular substrata (Gibson and Robb, 1992). This relationship has also been observed for juvenile winter flounder (9-95 mm standard length) (Phelan *et al.*, 2001), young-of-the-year Pacific halibut *Hyppoglossus stenolepis* (30-50 mm total length) (Stoner and Abookire, 2002; Stoner and Ottmar, 2003), and northern rock sole *Lepidopsetta polyxystra* (15-150 mm total length) (Stoner and Ottmar, 2003). The more the juveniles grow, the more they can bury themselves in coarse sediment since burying ability increases with size (Gibson and Robb, 1992, 2000; Moles and Norcross, 1995). Considering the rapid growth of juvenile flatfish following settlement, habitat selection will shift rapidly during the first year of benthic life, as demonstrated for winter flounder (Stoner *et al.*, 2001; Manderson *et al.*, 2002, 2003), Pacific halibut, and northern rock sole (Stoner and Ottmar, 2003). Juvenile winter flounder are mainly found on muddy sediments, possibly in association with prey abundance in this particular substrate (Howell *et al.*, 1999). Some studies have demonstrated that the abundance of food in the field may be a confounding factor in habitat selection (Phelan *et al.*, 2000, 2001; Stoner *et al.*, 2001). Sogard (1992) suggested that sandier substrates may enable better detection and capture of prey compared to muddier sediments, as juvenile winter flounder (22-71 mm) growth was improved in areas with coarser sediments.

Hence, sediment preferences in the field may not be directly applicable to laboratory conditions. Sediments provide a physical refuge from predation, and flatfish can adapt their skin pigmentation to match the sediment on which they lie. This strategic mechanism may reduce vulnerability to visual predators. Winter flounder, due to their cryptic colouration and burying ability, are able to exploit sand or mud habitats with a better foraging success than other habitat types (Sogard, 1992). Behaviour and growth of winter flounder seem to be closely related to sediment characteristics.

The use of sediments on the bottom of rearing tanks has not been considered in juvenile production for aquaculture, mainly due to the difficulty of keeping the substrate clean and normoxic (Ellis *et al.*, 1997). Juvenile flatfish are generally reared on hard-bottomed tanks. We do not know if sediments have any influence on growth when benthic juveniles are reared in tanks. In this study, we examined the influence of sediment texture on growth, survival, and general condition (presence or absence of fin erosion, pigmentation pattern) of newly settled winter flounder obtained from larval hatchery.

2.2 MATERIALS & METHODS

2.2.1 Study sites

Experiments were carried out from May to September 2003 in two experimental sites. Site 1 (48°31'N; 68°28'W) was located at the Station aquicole de Pointe-au-Père (Rimouski, Québec) and site 2 (48°38'N; 68°09'W) at the Institut Maurice-Lamontagne (Mont-Joli, Québec). Seawater was pumped from the St. Lawrence estuary, filtered through sand, and transferred to a cistern before being supplied to rearing tanks. At site 1, seawater was pumped from 100 meters offshore and filtered once (30 microns). At site 2, seawater was pumped from 2 kilometres offshore and filtered twice (20 microns). Seawater at site 1 was more turbid than at site 2. At site 1, natural conditions of temperature and salinity (salinity between 27 and 31 [mean: 29.6 ± 1.3] and temperature between 8 and 12°C [mean: $10.5 \pm 0.9^\circ\text{C}$]) were used for the experiment while the temperature at site 2 was maintained constant at $10.6 \pm 0.6^\circ\text{C}$ with an average salinity of 28.0 ± 1.3 .

2.2.2 Fish collection

Young-of-the-year winter flounder were obtained from larval rearing at the Station aquicole de Pointe-au-Père. Larval settlement occurred at around 380 degree-days following hatching. Newly metamorphosed juveniles were collected on the bottom of the larval rearing tanks every two days. Metamorphosis was defined as the time when the migration of the left eye to the right side of the head was completed (Chambers and Legget, 1987; Chambers *et al.*, 1988)

and also as the time when the body had flattened in the horizontal plane and fish had adopted a benthic undulatory swimming behaviour.

2.2.3 Experimental conditions

At each experimental facility, juveniles were put into six epoxy-coated rectangular tanks (0.425 m² x 0.1 m) at a density of 300 fish per tank. Three types of sediment were tested: the first was a commercial clay (Gourmet Nutrition F.B. Inc.) with a mean particle diameter of 15 µm; the two others were sifted beach sand (fine: 500 µm sieve, Canadian Standard Sieve Series, 0.5 mm opening; coarse: 1,000 µm sieve, Canadian Standard Sieve Series, 1 mm opening). The sediment layer in each tank was approximately 5 mm thick. Two replicate tanks were assigned for each sediment type at each experimental site. The photoperiod was maintained at 16L:8D. For site 1, illumination was provided by two 60 W incandescent lamps located 1 m above the tanks that provided 400 µmole quanta m⁻² s⁻¹ at the water surface. At the site 2, a 375 µmole quanta m⁻² s⁻¹ light intensity at the water surface was obtained from fluorescent lamps located 0.5 m above the tanks.

2.2.4 Feeding

Juveniles were fed with brine shrimp nauplii (*Artemia* sp.) for the first week and with 3- to 5-day-old enriched metanauplii for the following weeks. The 3-day-old metanauplii were fed with spirulina (Hagen Inc. and Argent Chemical Laboratories Inc.) while 5-day-old metanauplii were enriched with DHA Selco (INVE Aquaculture). Each tank received a daily ration of 75,000

brine shrimps, divided into three equal meals given at 9:00, 12:00, and 15:00. Each ration was calculated to provide a prey density of 5 brine shrimps per cm^2 .

2.2.5 Sampling

We sampled juveniles on days 1, 15, 29, 43, and 57 to monitor growth and condition. Juveniles were randomly sampled and measured for standard length, total length, and maximal width using a stereomicroscope equipped with a calibrated graduation. The general condition of the juveniles was assessed with two qualitative indices: a pigmentation index (value 0 assigned to albinos or nearly albino fish; 1 to fish with unpigmented patches; 2 to well-pigmented fish) and a fin erosion index varying from 0 (no fin erosion) to 5 (fin 100% eroded) (Fairchild and Howell, 2001). Biochemical indices (RNA/DNA and RNA/proteins ratios) were also used as growth indicators. At metamorphosis, before the transfer of the juveniles to the experimental tanks, morphometric measurements were made on 30 juveniles while 45 juveniles ($n = 15$ pools of 3 individuals) were sampled for biochemical analyses. On day 15, morphometric measurements were made on 12 juveniles per tank; 9 of these juveniles (3 pools of 3 individuals) were sacrificed for biochemical analysis. Six juveniles per tank were sacrificed (3 pools of 2 individuals) for the subsequent samplings. Individuals kept for biochemical analysis were rinsed in sterile ice-cold seawater and kept frozen at -80°C . At the end of the experiment, surviving juveniles were counted.

2.2.6 Biochemical analyses

Samples held at -80°C were thawed and weighed before being homogenized (Sonicator[®] XL 2020) in sterile nanopure water. DNA and RNA were extracted and partially purified using a modification of the Schmidt and Thannhauser method (Munro and Fleck, 1966). Type III RNA from baker's yeast (Sigma R-7125) and DNA from calf thymus (Sigma D-3664) were used as standards. Protein content was determined using a modification of the Lowry method (Hartree, 1972) with bovine serum albumin (Sigma A-4503) as the standard. Nucleic acid and protein concentrations, expressed in μg per mg of wet tissue, were estimated from the absorbance at 260 and 650 nm, respectively.

2.2.7 Statistical analysis

Analysis were performed using STATISTICA 5.1 (Statsoft Inc., 1997). Normality of data was checked with the Komolgorov-Smirnov distribution test and homoscedasticity with the Brown-Forsythe test. Three-way nested ANOVAs were used to determine the influence of time, sediment type, and replicate on morphometric measurements, with replicates being nested within sediment type. When a significant difference ($\alpha < 0.05$) occurred, we used an HSD Tukey test for pairwise comparisons if homoscedasticity was respected; otherwise we used a Games & Howell test (Sokal and Rohlf, 1995). Fin erosion and pigmentation indices between replicate tanks for each sediment type were compared with median tests. Replicate tanks were pooled as no significant difference was detected. The effect of sediment type for each sampling date was then tested with median tests. If a significant difference occurred, an LSD test on ranks was used. The

same tests were used to analyze the sediment effect on survival. The specific growth rate was calculated from the following equation (Houde and Schekter, 1981):

$$G = (\exp((\ln L_2 - \ln L_1) \times (t_2 - t_1)^{-1}) - 1) \times 100$$

where L_2 and L_1 are morphometric measurements taken at time t_2 and t_1 .

2.3 RESULTS

2.3.1 Survival

The highest survival after 56 days was observed on fine sand at site 1 (Table 1). Surviving juveniles were more than twice as abundant at site 1 than at site 2. At site 2, survival was greater in the tanks with clay. However, when sites are considered together, the three sediment types provided almost identical survival rates. Overall, the mean survival rate for the 56 days of the experiment was 26%. Daily mortality was monitored by removing and counting dead fish each morning. As organic matter decomposed rapidly, many dead fish could not be identified, impairing the use of statistical tests. However, daily observations indicated the presence of a mortality peak occurring between day 5 and day 16 at site 1 whereas mortality at site 2 was more severe and occurred between day 15 and day 29.

2.3.2 Morphometric measurements

At site 1, juveniles grew in length ($p < 0.05$, $df = 4$, $F = 484.8$) and width ($p < 0.05$, $df = 4$, $F = 448.4$) during the experimental period (Figure 1). Fish shifted from a newly metamorphosed body shape to a juvenile body shape during the 56 days: width increased by a factor of 3 while length increased only by a factor of 2 (Figure 1). Daily growth rates averaged 0.11 mm d^{-1} ($2\% \text{ d}^{-1}$) for width and 0.17 mm d^{-1} ($1.5\% \text{ d}^{-1}$) for total length. However, increments for these two morphometric measurements were not constant over the experimental period (Table 2). Sediment type had no effect ($p > 0.05$) on growth for fish reared at the Station aquicole de

Table 1 Overall survival (%) in each experimental tank for each site on day 57.

Sediment	Site 1		Site 2		Mean
	R1	R2	R1	R2	
Clay	37	27	18	29	28
Fine sand	40	50	14	11	29
Coarse sand	33	33	15	3	21
Mean	37		15		26

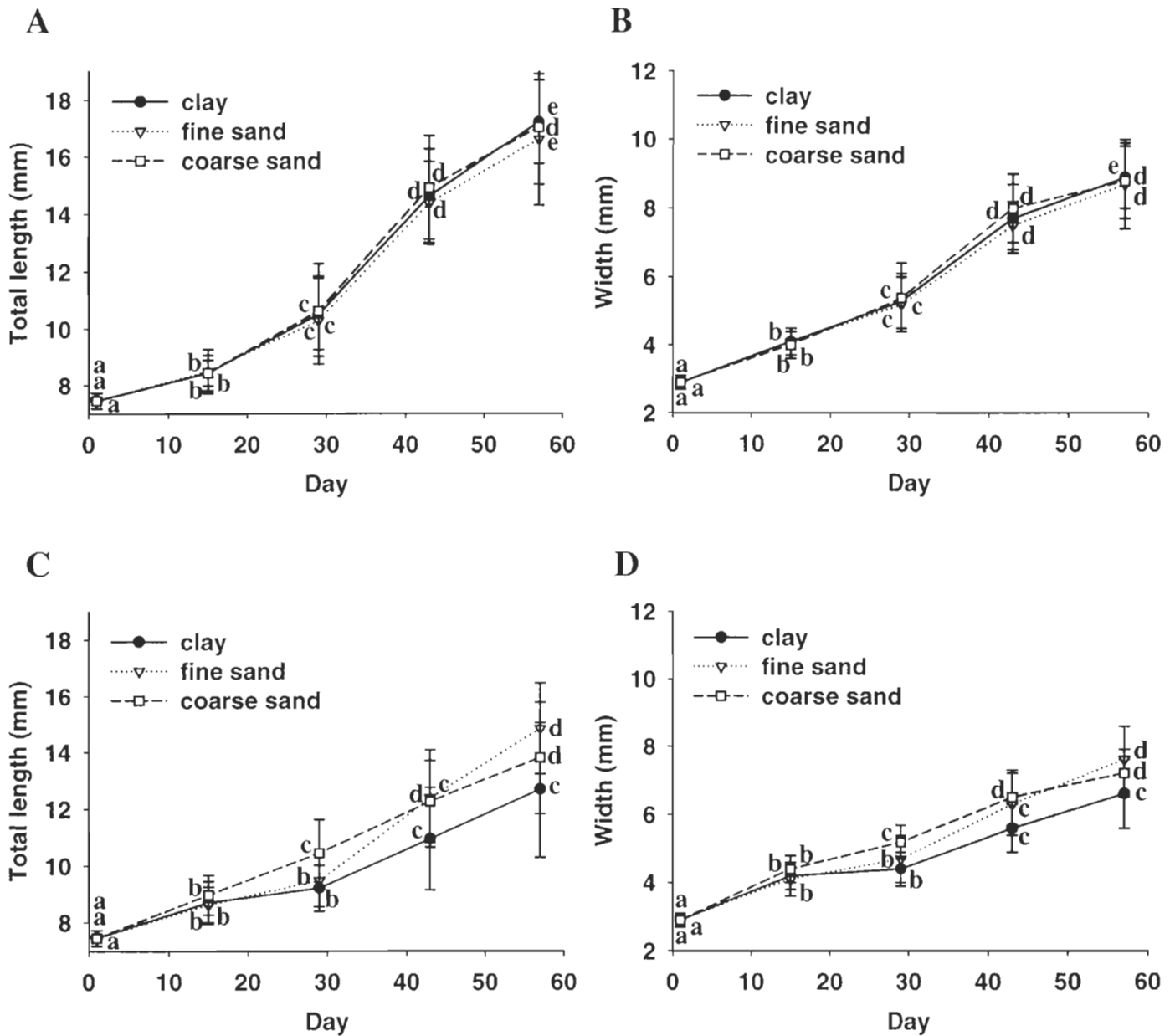


Figure 1 Variations in total length and width (mean \pm S.D.) of juvenile winter flounder reared at site 1 (A and B) and site 2 (C and D). Different letters indicate significant differences ($\alpha = 0.05$) among sampling dates for each sediment type.

Table 2 Specific growth rate per day (%) in total length and width for each sediment type at the two study sites. Specific growth rates are presented for each of the two-week intervals between samplings and were calculated using the mean values obtained at each sampling date.

Site	Sediment type		Day 1-15	Day 15-29	Day 29-43	Day 43-57	
1	Clay	Total length	0.9	1.6	2.4	1.2	
		Width	2.4	1.9	2.7	1.1	
	Fine sand	Total length	0.9	1.4	2.4	1.0	
		Width	2.5	1.6	2.7	1.0	
	Coarse sand	Total length	0.9	1.7	2.4	1.0	
		Width	2.2	2.2	2.9	0.7	
	All sediments	Total length	0.9	1.5	2.4	1.1	
		Width	2.4	1.9	2.8	0.9	
	2	Clay	Total length	1.1	0.4	1.3	1.1
			Width	2.6	0.4	1.7	1.2
Fine sand		Total length	1.0	0.7	1.9	1.3	
		Width	2.4	0.9	2.2	1.4	
Coarse sand		Total length	1.3	1.1	1.1	0.8	
		Width	2.9	1.3	1.6	0.8	
All sediments		Total length	1.2	0.7	1.4	1.1	
		Width	2.6	0.9	1.8	1.1	

Pointe-au-Père (site 1). At site 2, differences in growth were observed through time ($p < 0.05$, $df = 4$, $F = 164.8$) and among sediment types ($p < 0.05$, $df = 2$, $F = 16.2$). On clay and fine sand, growth was significantly reduced between day 15 and day 29 (Figure 1c,d). Following day 29, fish reared on fine sand had higher daily specific growth rates (Table 2). On coarse sand, the two replicate tanks were sharply divergent: one of the two replicates showed regular and significant growth at each sampling date, as observed at site 1 ($p < 0.05$, $df = 4$, $F = 157.5$), whereas juveniles reared in the other tank stopped growing following day 43. On day 57, juveniles reared on clay were smaller than those on fine sand. Mean growth rates for site 2 averaged 0.09 mm d^{-1} on clay, 0.13 mm d^{-1} on fine sand, and 0.11 mm d^{-1} on coarse sand. As for site 1, the daily specific growth rate in length and width for site 2 decreased to $1.1\% \text{ d}^{-1}$ during the last two weeks of the experiment (Table 2).

2.3.3 Nucleic acid and protein contents

Biochemical analyses were performed on juveniles from both sites that were reared on fine sand. Ribonucleic acid concentrations in juveniles varied significantly over time ($p < 0.0001$, $df = 4$, $F = 11.6$), but these changes were different for both sites (interaction time x site: $p < 0.05$, $df = 3$, $F = 5.3$). At site 1, RNA concentrations rose to $7.4 \mu\text{g mg}^{-1}$ of wet tissue on day 29 (Table 3) and then fell to $4.5 \mu\text{g mg}^{-1}$ by the end of the experiment. At site 2, RNA concentrations remained constant over time. There was no difference in DNA concentrations between the two sites and no site x time interaction. DNA concentrations reached a peak on day 29 (Table 3) then dropped until the end of the trial. Juveniles reared at site 1 had significantly higher protein concentrations ($p < 0.05$, $df = 1$, $F = 16.7$) than juveniles reared at site 2. Protein concentrations

Table 3 Nucleic acid and protein concentrations (mean \pm S.D.) of juvenile winter flounder for the different sampling dates during the experiment. Different letters indicate significant differences ($\alpha = 0.05$) among sampling dates for each site.

Site	Time (days)	[RNA] $\mu\text{g mg}^{-1}$ of wet mass	[DNA] $\mu\text{g mg}^{-1}$ of wet mass	[protein] $\mu\text{g mg}^{-1}$ of wet mass
1	1	4.9 \pm 1.0 ^a	2.8 \pm 0.8 ^a	194 \pm 31 ^a
	15	6.8 \pm 0.7 ^{bc}	2.1 \pm 0.3 ^{ab}	328 \pm 21 ^b
	29	7.4 \pm 1.0 ^c	2.4 \pm 0.1 ^a	408 \pm 49 ^c
	43	5.4 \pm 0.4 ^{ab}	1.4 \pm 0.1 ^b	399 \pm 31 ^c
	57	4.5 \pm 0.2 ^a	1.2 \pm 0.1 ^b	457 \pm 12 ^c
2	1	4.9 \pm 1.0	2.8 \pm 0.8 ^a	194 \pm 31 ^a
	15	6.4 \pm 0.2	2.0 \pm 0.2 ^{ab}	282 \pm 17 ^b
	29	6.1 \pm 0.4	2.7 \pm 0.5 ^a	378 \pm 35 ^c
	43	6.2 \pm 0.8	1.7 \pm 0.3 ^{ab}	377 \pm 35 ^c
	57	5.2 \pm 0.7	1.2 \pm 0.1 ^b	376 \pm 30 ^c

increased from day 1 to day 29 (Table 3) and then remained constant. Temporal variations in the RNA/DNA ratio differed between sites (site x time interaction: $p < 0.05$, $df = 3$, $F = 3.0$). For site 1, the RNA/DNA ratios increased by a factor of 2 between the beginning and the end of the experiment with no significant trend from day 15 to day 57 (Figure 2a). A significant decrease was observed at site 2 on day 29, and then the RNA/DNA ratios increased markedly up to day 57. The RNA/protein ratios changed significantly over time and between sites (time x site interaction: $p < 0.05$, $df = 3$, $F = 7.2$). At site 1, the RNA/protein ratio dropped continuously from $25 \mu\text{g mg}^{-1}$ of protein on day 1 to $9.7 \mu\text{g mg}^{-1}$ of protein on day 57 (Figure 2b). At site 2, the drop in the RNA/protein ratios was significant only between day 15 and 29.

2.3.4 Erosion and pigmentation

Overall, fin erosion was low and juveniles displaying erosion had generally less than 20% of their fin eroded. For site 1, an effect of sediment type on fin erosion was noticed only at the end of the experiment (Figure 3a). Juveniles reared on clay showed less fin erosion than juveniles reared on the two sand substrates ($p < 0.05$, $df = 2$, $\chi^2 = 7.3$). For site 2, the results were completely opposite (Figure 3b): until day 43, juveniles reared on clay showed more erosion than the others ($p < 0.05$, $df = 2$, $\chi^2 = 31.7$ on day 15; $\chi^2 = 31.7$ on day 29; $\chi^2 = 10.7$ on day 43); however, no sediment effect on fin erosion was observed at the final sampling ($p > 0.05$, $df = 2$, $\chi^2 = 2.0$). Pigmentation was not affected by time or sediment type at either site ($p > 0.05$), and fish were generally well-pigmented, with only 10% albino juveniles and 25% with unpigmented patches.

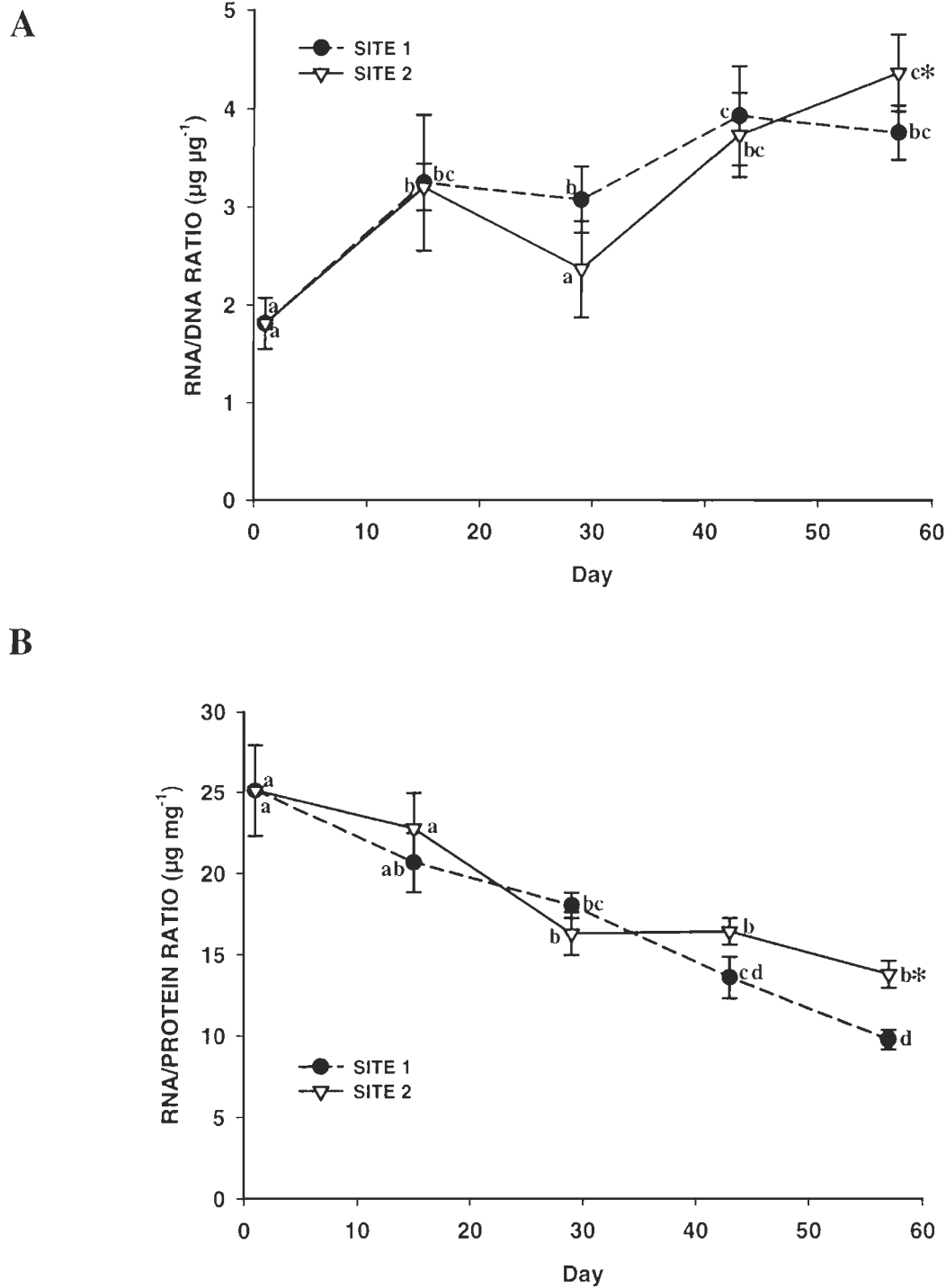


Figure 2 Variations of RNA/DNA ratio (A) and RNA/protein ratio (B) (mean \pm S.D.) over time in newly settled juvenile winter flounder reared on fine sand. Different letters indicate significant differences ($\alpha = 0.05$) among sampling dates for each site. Asterisks indicate significant difference ($\alpha = 0.05$) between the two sites on day 57.

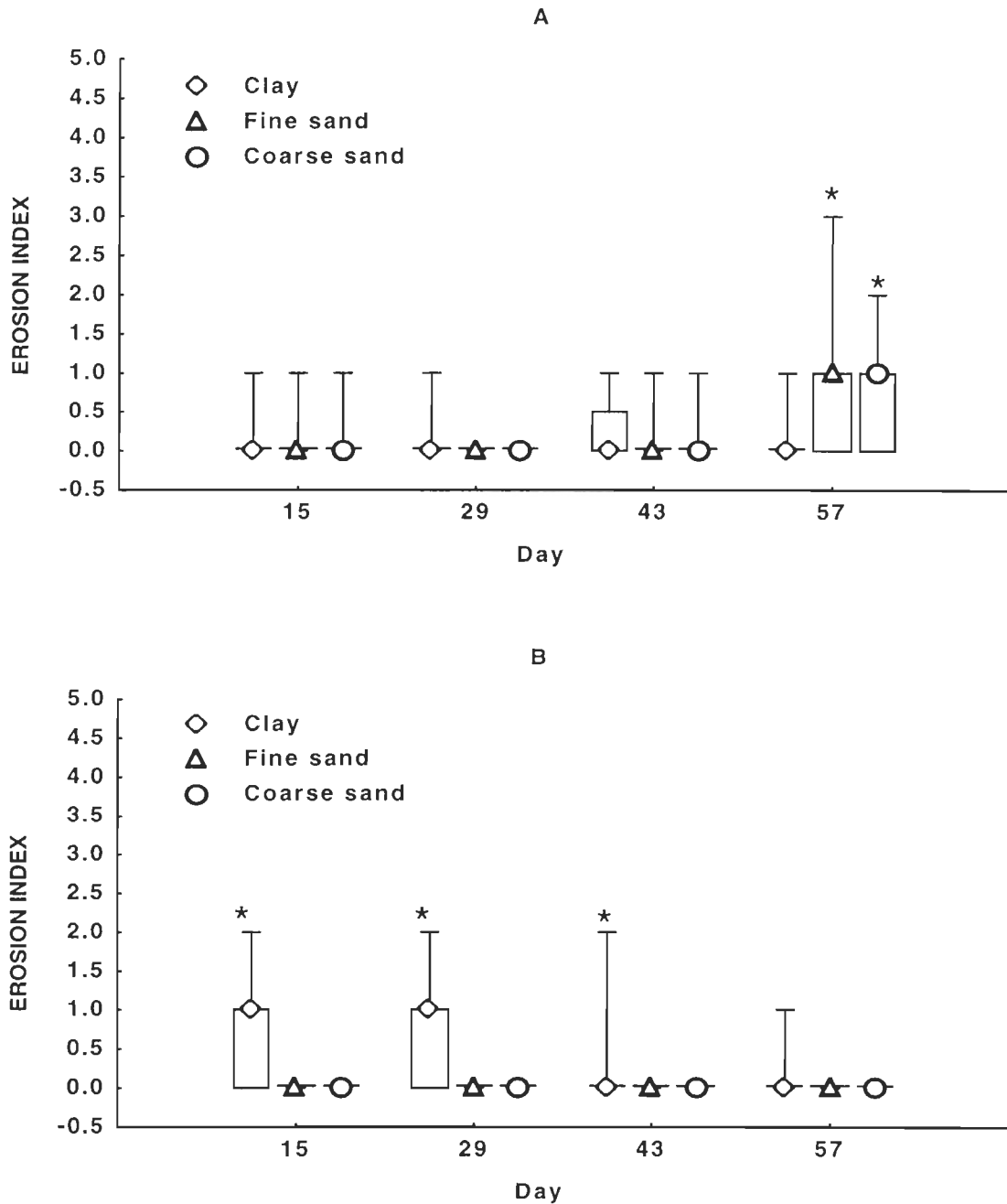


Figure 3 Temporal variations of the erosion index among sediment treatments at site 1 (A) and site 2 (B). Box-plots indicate median values with the 25-75% intervals illustrated by rectangular boxes. Asterisks indicate significant differences ($\alpha = 0.05$) among sediment treatment and sampling dates.

2.4 DISCUSSION

Although mortality appeared high during the trial, the survival rate obtained at site 1 was similar to another study on newly metamorphosed juvenile winter flounder (Lee and Litvak, 1996a). However, Fairchild and Howell (2001) obtained higher survival rates during a stocking density experiment, with 71% of the fish surviving for one of their treatments. A comparison of survival data among studies may be difficult, and care should be taken in interpreting the results as there is often a lack of information on the protocols used. Survival data for laboratory-reared juvenile winter flounder are rarely reported for the period during and immediately following the completion of metamorphosis, and the post-metamorphic phase of settlement may be accompanied by a severe mortality event, as observed in Japanese flounder (Gwak *et al.*, 1999, 2003; Gwak and Tanaka, 2001, 2002). Our observations indicate that a severe mortality event occurred soon after settlement and lasted about 14 days. If we do not include the mortalities that occurred during this critical period, the average survival rate of the experiment increases twofold (50%). In our study, this event did not seem to be related to the nutritional conditions, as the observation of the gut content of the dead juveniles indicate that they were feeding. This increased mortality event suggests the presence of a critical period following settlement and the completion of metamorphosis. Once fish settled, the metamorphosis was still not completed. Metamorphosis is a very complex event with drastic structural and metabolic modifications (Yamashita *et al.*, 2001). These changes are continuous and last for more than a day.

Over the 56-day trial, growth was greater for fish reared at site 1. Growth differences among sediment treatments appeared only at site 2, where fish grew better on sandy substrates. It

is unlikely that the slower growth rate obtained on clay at site 2 was due to the sediment properties, but more probably to some interaction of numerous factors since clay gave good results at site 1. The growth rate calculated from total length for fish reared at site 1, which is likely the best rearing location, was 0.17 mm d^{-1} . Chambers *et al.* (1988) obtained an average growth rate of 0.066 and 0.095 mm d^{-1} for newly metamorphosed juvenile winter flounder 8 and 10 weeks post hatching, respectively. Bertram *et al.* (1993, 1997) obtained growth rates in newly settled winter flounder (7 mm) that ranged from 0.1 to 0.19 mm d^{-1} . The overall average growth rate reached 0.15 mm d^{-1} for newly settled juveniles (8 to 96 mm in standard length) caught from the field and reared in the laboratory following settlement (Meise *et al.*, 2003). In wild juveniles, greater than 3 cm (total length), higher growth rates, ranging from 0.46 to $1.8 \text{ cm month}^{-1}$ (0.15 to 0.6 mm d^{-1}), were observed (Meise *et al.*, 1999). Our results generally indicate good growth for these newly settled juveniles.

Biochemical indices have been developed to accurately monitor fish growth. The RNA/DNA ratio used as an index of fish growth (Love, 1980) reflects the nutritional status of fish as it is strongly correlated with somatic growth rate. The RNA/DNA ratio also provides pertinent information on the nutritional condition in both larval and juvenile stages for several fish species (Buckley, 1982, 1984; Buckley *et al.*, 1990; Malloy and Targett, 1994a; b; Takii *et al.*, 1994; Malloy *et al.*, 1996; Bishop *et al.*, 2000; Fukuda *et al.*, 2001; Gwak and Tanaka, 2001, 2002; Gwak *et al.*, 2003). As growth was generally independent of sediment type, biochemical analyses were only performed on juveniles reared on the fine sand substrate. Juveniles reared at both sites displayed fluctuating RNA/DNA ratios over the experiment period. This fluctuating pattern, also observed with Japanese flounder (Gwak and Tanaka, 2001, 2002; Gwak *et al.*, 2003) during the early juvenile period, could be due to a high inter-individual variability of sampled

fish. Even though the RNA/DNA ratios displayed such variations during the eight-week trial, the two-fold increase at each site between the beginning and the end of the experiment period can be seen as indicative of the good nutritional status of the juveniles. The relative stability of this index over time for juveniles reared at site 1 could be explained by better feeding conditions, while the drop observed at mid experiment (day 29) at site 2 could suggest a lower nutritional condition for those fish. This idea is supported by the non-significant growth of fish reared on clay and fine sand at this same site from day 15 to 29. The increase of the RNA/DNA ratio from day 29 to the end of the trial, illustrating better condition, is also supported by the somatic growth increase. According to works by Malloy and Targett (1994a; b), Fukuda *et al.* (2001), and Gwak and Tanaka (2001, 2002), the limit between starved and well-fed fish is probably species-specific, limiting inter-specific comparisons. In addition, direct extrapolation of studies on larvae to juveniles should not be done without critical evaluation. In larval studies, both nucleic acid concentrations and RNA/DNA ratios increase with time (Ben Khemis *et al.*, 2000), revealing the high growth capacity of larvae. Somatic growth in juveniles is performed by cyclic phases of hypertrophy and hyperplasia (Mommensen, 2001; Gwak and Tanaka, 2002), and therefore the fluctuating pattern of the RNA/DNA ratio could be misleading for assessing somatic growth. The RNA/protein ratio, a better growth indicator for juveniles according to Buckley *et al.* (1999), is directly related to the tissue ribosome concentration (McMillan and Houlihan, 1989) since tissue RNA is preponderantly ribosomal (Henshaw *et al.*, 1971). The general decrease in the RNA/protein ratio observed at both sites was more pronounced and continuous at site 1. At the end of the experiment, the same protein content was synthesized by more RNA for fish reared at site 2, probably revealing a better ribosomic efficiency at site 1. During the juvenile period, nucleic acid concentrations decrease while concentrations of protein, lipids, and ash increase with development and ossification (Love, 1970). Over the 56-day trial, the continuous decrease in the

RNA/protein ratio, which is considered to be correlated with the ribosome concentration, may reflect the increase in ribosomal activity since protein synthesis still occurred. In juvenile Atlantic cod *Gadus morhua*, starving conditions induced a decrease in the RNA/protein ratio (Peck *et al.*, 2003). However, McMillan and Houlihan (1989) found no significant effect of re-feeding on the tissue RNA/protein ratio. Therefore, the decrease in the RNA/protein ratio may not necessarily reflect a starving condition but could be a physiological mechanism to perform protein synthesis despite a low feeding level. Protein synthesis is altered both by ribosome concentration and ribosome activity (Henshaw *et al.*, 1971). Considering the positive growth rate of the juveniles, one might think that protein synthesis still occurred by an increase in the RNA activity, particularly the polyribosome activity.

We used erosion and pigmentation indices to monitor the general condition of the juveniles. Using substrate in tanks is known to lower water quality conditions and thus to increase opportunistic bacterial infections such as fin erosion. However, the presence of sediments coupled with the use of live food and the open-water system in the present study may have lessened the negative effects associated with sediments. A degradation in water quality is caused by an over-accumulation of organic matter above the substrate, but good water flow in the tank could help prevent this problem. The use of sediment in our study did not induce fin erosion: juveniles generally had undamaged fins over the entire trial. We monitored pigmentation to assess a possible effect of the sediment colouration on pigmentation pattern. Our results also demonstrate that the substrate did not alter skin pigmentation on either the ocular or the blind side. The presence of a substrate prevents ambicolouration (Stickney and White, 1975) (*i.e.*, pigmentation on both sides), and fish reared on sandy substrates have the lowest occurrence of pigment abnormalities (Ottesen and Strand, 1996). Pseudo albinism (10% of the stock) and

hypomelanosis (25%) that we observed in our study did not appear to be caused by sediments (as shown by statistical analyses), but more probably were due to the food provided during the larval stage. The relationship between pigmentation and larval nutrition is well documented (*e.g.*, Bolker and Hill, 2000), and pigmentation abnormalities are a recurrent problem in aquaculture. We did not observe erosion or pigmentation problems related to sediments.

For site 1, no effect of sediment type could be detected for the growth or survival parameters. The sediment type effect observed at site 2 is difficult to explain. It may result from interactions with other factors (water quality, feeding, light, turbidity), as both growth and survival observed at this site were lower compared to the ones obtained at site 1. The selection of these three sediment types was based upon the study of Phelan *et al.* (2001) and also reflects possible types of substrate encountered by newly settled juveniles in the field. Different results could possibly be demonstrated if a wider range of particles was used, but our primary goal was to enhance growth and survival by using a specific substratum among those present in the field. Benthic juvenile winter flounder are closely associated with the substrate. Before reaching a size of 55 mm, juveniles are found more frequently on fine-grained sediment with high organic content (Stoner *et al.*, 2001) whereas larger fish are not closely associated with specific sediment characteristics. Therefore, while the best sediment could not be identified through this study, our results demonstrated that the use of a fine-grained sediment (diameter < 1 mm) have not delayed growth, or affected the general condition of newly settled juvenile winter flounder.

The use of sediment in culture tanks has been assessed with several crustacean species. Stevens (2003) observed higher mortality of red king crab *Paralithodes camtschaticus* when

glaucothoe settlement occurred on open sand while more complex substrates enriched with hydroids and red algae allowed a better survival. The more closely the substrate conditions matched the natural environment, the more survival was improved. In shrimp culture, the enhancing effect of sediment on growth has been clearly demonstrated (Regnault, 1976; Allan and Maguire, 1995), but sediment type (mud, fine sand, or coarse sand) had no effect on growth (Allan and Maguire, 1995). The presence of sand also stimulates ovarian development of *Penaeus kerathurus* (Luis and Ponte, 1993). The presence of sand had a positive effect on the resting metabolic rate of juvenile sole (*Solea solea*) by reducing the oxygen consumption rate (Howell and Canario, 1987). Therefore, the presence of sand allowed energy savings that could be used to enhance somatic growth. Investigations by Fischer (2000a; b) showed that substrate type may substantially affect somatic growth of burbot *Lota lota*, a benthic freshwater species. He demonstrated a significant reduction in the burbot growth rate with a gravel substrate instead of a stony substrate, even when there was no predation risk. He also observed a 30% increase in burbot metabolism with fish held on a pebble substrate compared to cobbles.

Sediment has significant effects on flatfish behaviour (Gibson and Robb, 1992, 2000; Keefe and Able, 1994; Moles and Norcross, 1995; Ellis *et al.*, 1997; Neuman and Able, 1998; Fischer, 2000a; b; Phelan *et al.*, 2001; Stoner and Abookire, 2002; Dou *et al.*, 2003; Stoner and Ottmar, 2003), metabolism (Howell and Canario, 1987; Fischer, 2000a; b), and survival (Dou *et al.*, 2003). Sediment acts as a biofilter by reducing ammonia concentration in aquaria (Allan and Maguire, 1995). Positive effects of the substratum in shrimp culture systems are well documented (Bratvold and Browdy, 2001), but there is a lack of data for benthic fish, especially for winter flounder, a recent species selected for the aquaculture development in Atlantic Canada (Litvak, 1999).

Experimental conditions between the sites were similar, although different water filtration in the supplying system of each site resulted in finer particles remaining in suspension in site 1 than in site 2. Higher turbidity levels do not decrease feeding opportunity for planktivorous fish (De Robertis *et al.*, 2003). However, the effect of turbidity has never been assessed on newly settled winter flounder, a benthic fish that lives in relatively high turbidity conditions in the field. Light conditions were also different, but there is no information in the literature dealing with the effects of fluorescent and incandescent light on fish growth. Finally, another factor that could have induced growth differences between the two sites might be food, as the brine shrimp ration provided to juveniles was prepared locally, so food quality could not be exactly the same.

Through our study, we demonstrated that sediment type could significantly influence the growth of newly settled juvenile winter flounder. Differences between sites indicate that other important factors have to be controlled before obtaining conditions favouring optimal production on a regular basis. The two replicate tanks with medium sand at site 2 gave very different results both in growth and survival. Juveniles reared in replicate tank number 2 underwent an important and significant decrease in growth from day 43 to 57 and only 3% of the fish remained alive. Further studies are needed to discern one or more factors inducing different growth patterns.

CHAPITRE 3

CROISSANCE DES JUVÉNILES SAUVAGES SOUS DEUX RÉGIMES DE PHOTOPÉRIODE

3.1 MATÉRIEL ET MÉTHODES

3.1.1 Acquisition des poissons

Les juvéniles de plie rouge utilisés lors de cette expérience ont été capturés dans l'estuaire maritime du Saint-Laurent, en face de Sainte-Luce (Québec). Soixante juvéniles de plie rouge ont ainsi été recueillis au cours du mois de mai 2003. La masse des juvéniles se situait dans un intervalle compris entre 10 et 110 grammes, seuil limite fixé permettant de différencier le stade juvénile du stade adulte.

3.1.2 Protocole expérimental

La croissance des juvéniles a été suivie sur 2 mois, du 26 mai au 28 juillet 2003. Tous les individus ont été rassemblés puis séparés aléatoirement en 4 groupes de 15 individus dans des bassins en bois, recouverts de résine époxy, d'une contenance de 200 litres, éclairés par des ampoules incandescentes de 60 W fixées à hauteur de 60 cm. Le fond de chaque bassin était recouvert de sable grossier identique à celui retrouvé sur la plage. Deux régimes photopériodiques ont été testés en duplicata. Le premier (2 groupes) mimait la photopériode naturelle alors que le second (2 autres groupes) était constant à 16 heures de lumière pour 8 heures d'obscurité (maintien des conditions du solstice d'été). Les ajustement de l'éclairage étaient réalisés à chaque semaine pour les deux groupes de juvéniles élevés sous photopériode naturelle (Annexe 1). Les individus ont été maintenus dans une eau saumâtre de salinité de 14 ppm (Plante *et al.*, 2002). Au cours de l'expérience la température de l'eau a varié entre 6 et 12.5 °C et les juvéniles ont reçu une ration alimentaire quotidienne représentant 3% de leur masse

humide. L'alimentation était constituée d'un mélange de hareng (30%), de crevettes (30%) et d'aliment sec (40%) commercial (Clear Choice 6.0 mm, Corey Feed, Fredericton NB). Une heure après le début de l'alimentation, la nourriture non consommée était enlevée des bassins. Au cours du premier mois de l'expérience, la densité dans chaque bassin a été maintenue à 15 individus par remplacement des morts le cas échéant, à partir d'un bassin de réserve.

3.1.3 Plan d'échantillonnage

L'expérience a débuté le 26 mai par un premier échantillonnage où la longueur totale, la longueur standard, la largeur maximale et la masse humide ont été mesurées. Les animaux étaient anesthésiés avec une dose de $0,18 \text{ g.L}^{-1}$ de MS-222 (acide 3-aminobenzoïque éthyle ester ; Sigma A-5040). Les mesures ont été répétées ensuite à chaque mois.

3.1.4 Traitement des données

Les variations de croissance ont été testées par une ANOVA à 3 facteurs (temps, réplicat et photopériode). L'homogénéité de la variance a été vérifiée par un test de Brown-Forsythe. Un test de comparaison multiple de Tuckey pour n inégaux a été utilisé dans le cas d'une variance homogène. Les analyses statistiques ont été faites à l'aide du logiciel STATISTICA 5.1 (Statsoft Inc., 1997).

3.2 RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les variations de croissance en longueur et en largeur au cours des deux mois d'expérimentation n'ont pas été significatives ($p > 0.05$, $dl = 155$, $F = 2.0$; $p > 0.05$, $dl = 155$, $F = 1.8$), alors que les poissons ont accru significativement leur masse (Figure 4) entre le début et la fin de l'expérience ($p < 0.05$, $dl = 155$, $F = 3.1$). Aucune différence de croissance en masse et en longueur n'a été observée entre les deux traitements photopériodiques utilisés ($p > 0.05$, $dl = 155$, $F = 1.7$; $p > 0.05$, $dl = 155$, $F = 3.1$). La photopériode naturelle entre le mois de mai et de juillet étant quasi similaire à celle du solstice d'été, soit 16 heures de lumière pour 8 heures d'obscurité, la différence d'éclairage ne semble pas suffisamment importante pour résulter en une croissance améliorée chez les groupes élevés sous une photopériode estivale (16L : 8N). La sensibilité des poissons aux photopériodes continues serait moins prononcée en période estivale comparativement au reste de l'année (Simensen *et al.*, 2000). L'allongement de la photopériode est connu pour entraîner une augmentation du taux de croissance (Fuchs, 1982 ; Hart *et al.*, 1996 ; Imsland *et al.*, 1997 ; Purchase et Brown, 1997 ; Jonassen *et al.*, 2000 ; Simensen *et al.*, 2000) par le biais d'une meilleure stimulation de la prise alimentaire, mais également par une meilleure efficacité de conversion alimentaire (Bœuf et Le Bail, 1999). L'augmentation du taux de croissance à une photopériode maintenue constante à 16L : 8N s'explique principalement par une période d'alimentation plus étendue chez les poissons s'alimentant le jour (Fuchs, 1982). Dans notre expérience, nous avons fixé la photopériode la plus propice à obtenir une meilleure croissance à 16 heures de lumière pour 8 heures d'obscurité. Cependant des gains significatifs en masse ont été obtenus sous un éclairage continu (Jonassen *et al.*, 2000 ; Simensen *et al.*, 2000).

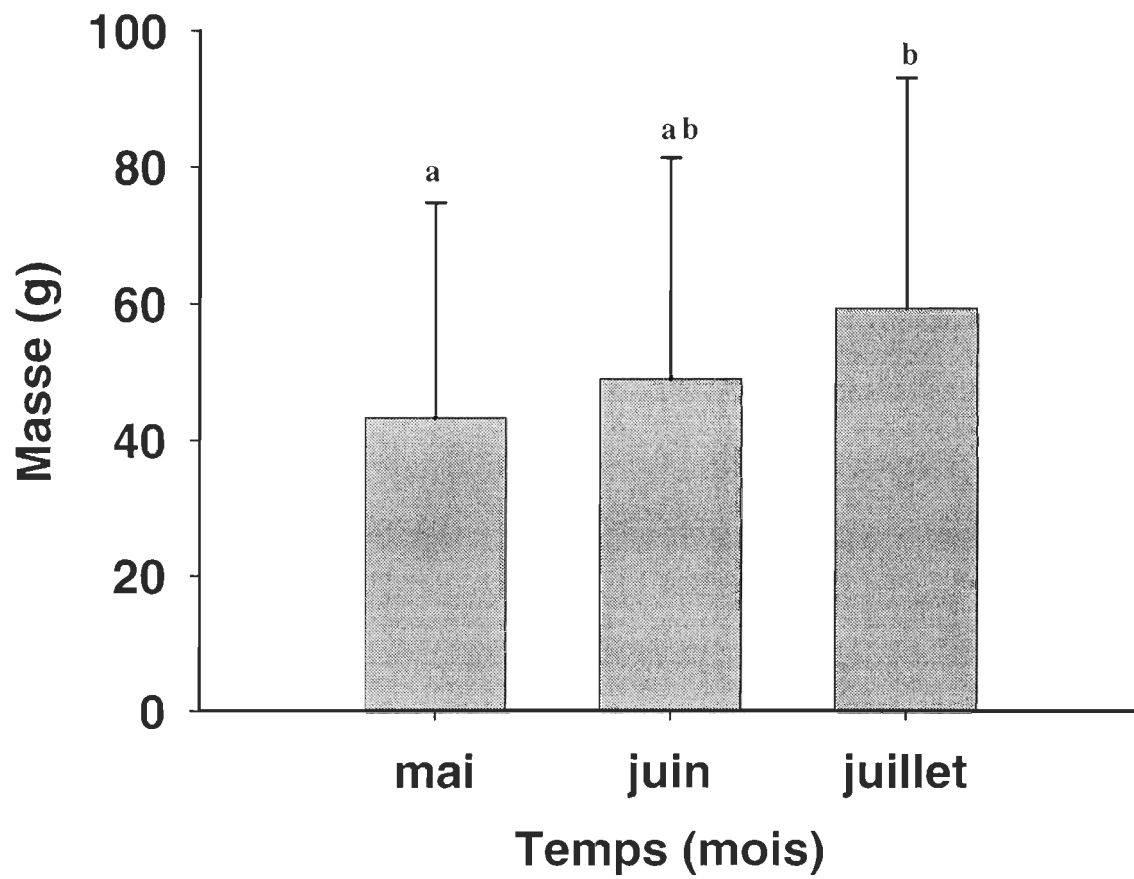


Figure 4 Croissance en masse des juvéniles sauvages au cours de la période estivale. Les lettres différentes indiquent des valeurs significativement différentes ($\alpha = 0.05$).

Les individus utilisés lors d'expériences précédentes étaient nourris deux fois par jour (Woiwode & Adelman 1991 ; Imsland *et al.*, 1997 ; Simensen *et al.*, 2000) ou également en continu à l'aide d'un distributeur automatique (Jonassen *et al.*, 2000). Ce type de protocole paraît plus apte à produire des gains en croissance significatifs pour les traitements de lumière optimaux, comparativement à notre propre protocole où les individus n'étaient nourris qu'une seule fois par jour. Une fréquence d'alimentation supérieure à une fois par jour permettrait de rallonger la disponibilité en nourriture « fraîche » aux poissons, ce qui pourrait stimuler la prise alimentaire et donc la croissance. La fréquence et le renouvellement de la nourriture pourraient ainsi avoir une influence combinée avec la photopériode dans les processus à l'œuvre lors de telles expériences.

Cette présente étude vient compléter des travaux précédents menés dans notre laboratoire qui visaient à évaluer l'effet de deux régimes de température et d'une photopériode constante (12 L : 12 N) sur le phénomène de jeûne chez les juvéniles au cours de l'automne (Seychelles, 2003). Les résultats de cette dernière étude, ainsi que la présente étude, indiqueraient l'absence d'un effet marqué de la photopériode sur les juvéniles de plie rouge en grossissement. La prochaine étape consisterait donc à tester des périodes d'éclairement plus longues, ainsi que de combiner différentes fréquences d'alimentation de manière à renouveler la nourriture tout en conservant une disponibilité optimale. Ces expériences futures permettraient de savoir s'il est possible de stimuler l'alimentation et donc la croissance des juvéniles en été, en prévision de la diminution du taux de croissance observée à l'automne.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Afin de répondre à notre objectif de départ, la première partie de cette étude visait à évaluer l'effet du type de sédiment sur la croissance, la survie, la pigmentation et l'érosion des nageoires chez les juvéniles de plie rouge. La mise à notre disposition d'un deuxième site d'étude nous a permis de détecter des croissances différentes selon le sédiment, ce qui n'a pas été le cas au niveau du premier site d'étude. Cependant, la croissance a été bien supérieure au site 1 comparativement au site 2. Les différences obtenues entre les deux sites d'études, ainsi que celles entre deux réplicats pour un même traitement, sont d'autant plus difficile à interpréter que des protocoles similaires ont *a priori* été appliqués pour chaque site. Les résultats positifs de cette étude sont sans conteste les forts taux de croissance obtenus, ainsi qu'une survie largement améliorée par rapport aux travaux précédents. L'utilisation de sédiments n'a pas affecté la condition générale des juvéniles aux vues des indices d'érosion très faibles tout au long de l'expérience et d'une pigmentation normale pour l'ensemble des juvéniles. Enfin cette étude a confirmé les doutes des précédents travaux menés dans notre laboratoire, quant à la présence d'une nouvelle période critique suivant la métamorphose, illustrée par un nombre impressionnant de mortalités à l'intérieur de 10 à 14 jours.

La seconde partie de ces travaux a révélé qu'en période estivale, une photopériode constante ne semble pas induire de gain significatif en croissance par rapport à la photopériode naturelle. Cependant les résultats obtenus sont encourageants pour la suite et nous incitent fortement à poursuivre dans la même direction afin de trouver les conditions optimales d'élevage des juvéniles de plie rouge au cours des différentes saisons.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Allan, G.L. & Maguire, G.B., 1995. Effects of sediment on growth and acute ammonia toxicity for the school prawn, *Metapenaeus macleayi* (Haswell). *Aquaculture* 131, 59-71.
- Amezcuca, F. & Nash, R.D.M., 2001. Distribution of the order Pleuronectiformes in relation to the sediment type in the North Irish Sea. *J. Sea Res.* 45, 293-301.
- Anderson, J.T., 1988. A review of size dependent survival during pre-recruit stages of fishes in relation to recruitment. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 8, 55-66.
- Ben Khemis, I., de la Noue, J. & Audet, C., 2000. Feeding larvae of winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum) with live prey or microencapsulated diet: linear growth and protein, RNA and DNA content. *Aquacult. Res.* 31, 377-386.
- Bertram, D.F., Chambers, R.C. & Leggett, W.C., 1993. Negative correlations between larval and juvenile growth rates in winter flounder: implications of compensatory growth for variation in size-at-age. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 96, 209-215.
- Bertram, D.F., Miller, T.J. & Leggett, W.C., 1997. Individual variation in growth and development during the early life stages of winter flounder, *Pleuronectes americanus*. *Fish. Bull.* 95, 1-10.

- Bigelow, H.B. & Schroeder, W.C., 1953. Fishes of the Gulf of Maine. Fish. Bull. Fish and Wildlife Service 53, 577 p.
- Bishop, R.E., Torres, J.J. & Crabtree, R.E., 2000. Chemical composition and growth indices in leptocephalus larvae. Mar. Biol. 137, 205-214.
- Boeuf, G. & Le Bail, P.-Y., 1999. Does light have an influence on fish growth ? Aquaculture 177, 129-152.
- Bolker, J.A. & Hill, C.R., 2000. Pigmentation development in hatchery-reared flatfishes. J. Fish Biol. 56, 1029-1052.
- Bratvold, D. & Browdy, C.L., 2001. Effects of sand sediment and vertical surfaces (AquaMats) on production, water quality, and microbial ecology in an intensive *Litopenaeus vannamei* culture system. Aquaculture 195, 81-94.
- Buckley, L.J., 1982. Effects of temperature on growth and biochemical composition of larval winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 8, 181-186.
- Buckley, L.J., 1984. RNA-DNA ratio: an index of larval fish growth in the sea. Mar. Biol. 80, 291-298.

- Buckley, L.J., Smigielski, A.S., Halavik, T.A. & Laurence, G.C., 1990. Effects of water temperature on size and biochemical composition of winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* at hatching and feeding initiation. *Fish. Bull.* 88, 419-428.
- Buckley, L., Caldarone, E. & Ong, T.-L., 1999. RNA-DNA ratio and other nucleic acid-based indicators for growth and condition of marine fishes. *Hydrobiologia* 401, 265-277.
- Chambers, R.C. & Leggett, W.C., 1987. Size and age at metamorphosis in marine fishes: an analysis of laboratory-reared winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) with a review of variation in other species. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 44, 1936-1947.
- Chambers, R.C., Leggett, W.C. & Brown, J.A., 1988. Variation in and among early life history traits of laboratory-reared winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 47, 1-15.
- Curran, M.C. & Able, K.W., 2002. Annual stability in the use of coves near inlets as settlement areas for winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*). *Estuaries* 25, 227-234.
- Davies, P.L., Hew, C.L. & Fletcher, G.L., 1988. Fish antifreeze proteins: physiology and evolutionary biology. *Can. J. Zool.* 66, 2611-2617.
- De Montgolfier, B., 2003. Influence du système d'élevage et du régime alimentaire larvaire sur les juvéniles post-métamorphiques de plie rouge (*Pseudopleuronectes americanus*). Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, 101 p.

- De Robertis, A., Ryer, C.H., Veloza, A. & Brodeur, R.D., 2003. Differential effects of turbidity on prey consumption of piscivorous and planktivorous fish. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 60, 1517-1526.
- Dou, S., Masuda, R., Tanaka, M. & Tsukamoto, K., 2003. Identification of factors affecting the growth and survival of the settling Japanese flounder larvae, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 218, 309-327.
- Duman, J.G. & De Vries, A.L., 1974. Freezing resistance in winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Nature* 247, 237-238.
- Ellis, T., Howell, B.R. & Hughes, R.N., 1997. The cryptic responses of hatchery-reared sole to a natural sand substratum. *J. Fish Biol.* 51, 389-401.
- Fairchild, E.A. & Howell, W.H., 2001. Optimal stocking density for juvenile winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *J. World Aquacult. Soc.* 32, 300-308.
- Fischer, P., 2000a. Competitive interactions for space between the two benthic fish species, burbot (*Lota lota* L.) and stone loach (*Barbatula barbatula* L.) *Environ. Biol. Fishes* 58, 439-446.
- Fischer, P., 2000b. An experimental test of metabolic and behavioural responses of benthic fish species to different types of substrate. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 57, 2336-2344.

- Fletcher, G.L., 1977. Circannual cycles of blood plasma freezing point and Na⁺ and Cl⁻ concentrations in Newfoundland winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*), correlation with water temperature and photoperiod. *Can. J. Zool.* 55, 789-795
- Fredette, M., Batt, J. & Castell, J., 2000. Feeding stimulant for juvenile winter flounders. *N. Am. J. Aquacult.* 62, 157-160.
- Fuchs, J., 1982. Production de juvenile de sole (*Solea solea*) en conditions intensives. I. Le premier mois d'élevage. *Aquaculture* 26, 321-337.
- Fukuda, M., Sako, H., Shigeta, T. & Shibata, R., 2001. Relationship between growth and biochemical indices in laboratory-reared juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*), and its application to wild fish. *Mar. Biol.* 138, 47-55.
- Gibson, R.N. & Robb, L., 1992. The relationship between body size, sediment grain size and the burying ability of juvenile plaice, *Pleuronectes platessa* L. *J. Fish Biol.* 40, 771-778.
- Gibson, R.N. & Robb, L., 2000. Sediment selection in juvenile plaice and its behavioural basis. *J. Fish Biol.* 56, 1258-1275.
- Gwak, W.S., Seikai, T. & Tanaka, M., 1999. Evaluation of starvation status of laboratory-reared Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* larvae and juveniles based on morphological and histological characteristics. *Fisheries Sci.* 65, 339-346.

- Gwak, W.S. & Tanaka, M., 2001. Developmental change in RNA:DNA ratios of fed and starved laboratory-reared Japanese flounder larvae and juveniles, and its application to assessment of nutritional condition for wild fish. *J. Fish Biol.* 59, 902-915.
- Gwak, W.S. & Tanaka, M., 2002. Changes in RNA, DNA and protein contents of laboratory-reared Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* during metamorphosis and settlement. *Fisheries Sci.* 68, 27-33.
- Gwak, W.S., Tsusaki, T. & Tanaka, M., 2003. Nutritional condition, as evaluated by RNA/DNA ratios, of hatchery-reared Japanese flounder from hatch to release. *Aquaculture* 219, 503-514.
- Hall, S.J., 1988. The effects of reversal of seasonal changes in photoperiod on the growth and food consumption of cod, *Gadus morhua* L. *J. Fish Biol.* 32, 783-792.
- Hart, P.R., Hutchinson, W.G. & Purser, G.J., 1996. Effects of photoperiod, temperature and salinity on hatchery-reared larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1862). *Aquaculture* 144, 303-311.
- Hartree, E.F., 1972. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.* 48, 422-427.

- Henshaw, E.C., Hirsch, C.A., Morton, B.E. & Hiatt, H.H., 1971. Control of protein synthesis in mammalian tissues through changes in ribosome activity. *J. Biol. Chem.* 246, 436-446.
- Hoornbeek, F.K., Sawyer, P.J. & Sawyer, E.S., 1982. Growth of winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) and smooth flounder (*Liopsetta putnami*) in heated and unheated water. *Aquaculture* 28, 363-373.
- Houde, E.D. & Schekter, R.C., 1981. Growth rates, rations and cohort consumption of marine fish larvae in relation to prey concentrations. *Rapp. P.-v. Réun., Cons. Int. Explor. Mer* 178, 441-453.
- Howell, B.R. & Canario, A.V.M., 1987. The influence of sand on the estimation of resting metabolic rate of juvenile sole, *Solea solea* (L.). *J. Fish Biol.* 31, 277-280.
- Howell, P.T., Molnar, D.R. & Harris, R.B., 1999. Juvenile winter flounder distribution by habitat type. *Estuaries* 22, 1090-1095.
- Imsland, A.K., Folkvord, A., Jónsdóttir, O.D.B. & Stefansson, S.O., 1997. Effects of exposure to extend photoperiods during the first winter on long-term growth and age at first maturity in turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* 159, 125-141.
- Jonassen, T.M., Imsland, A.K., Kadowaki, S. & Stefansson, S.O., 2000. Interaction of temperature and photoperiod on growth of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquacult. Res.* 31, 219-227.

- Keefe, M. & Able, K.W., 1994. Contributions of abiotic and biotic factors to settlement in summer flounder, *Paralichthys dentatus*. *Copeia* 1994, 458-465.
- Lee, G.W.Y. & Litvak, M.K., 1996a. Weaning of wild young-of-the-year winter flounder *Pleuronectes americanus* (Walbaum) on a dry diet: effects on growth, survival, and feed efficiency ratios. *J. World Aquacult. Soc.* 27, 30-39.
- Lee, G.W.Y. & Litvak, M.K., 1996b. Weaning of metamorphosed winter flounder (*Pleuronectes americanus*) reared in the laboratory: comparison of two commercial artificial diets on growth, survival and conversion efficiency. *Aquaculture* 144, 251-263.
- Litvak, M.K., 1999. The development of winter flounder (*Pleuronectes americanus*) for aquaculture in Atlantic Canada: current status and future prospects. *Aquaculture* 176, 55-64.
- Love, R.M., 1970. *The chemical biology of fishes, I*. Academic Press, New York. 547 p.
- Love, R.M., 1980. *The chemical biology of fishes, II*. Academic Press, New York. 943 p.
- Luis, O.J. & Ponte, A.C., 1993. Control of reproduction of the shrimp *Penaeus kerathurus* held in captivity. *J. World Aquacult. Soc.* 24, 31-39.

- Malloy, K.D. & Targett, T.E., 1994a. The use of RNA:DNA ratios to predict growth limitation of juvenile summer flounder (*Paralichthys dentatus*) from Delaware and North Carolina estuaries. *Mar. Biol.* 118, 367-375.
- Malloy, K.D. & Targett, T.E., 1994b. Effects of ration limitation and low temperature on growth, biochemical condition, and survival of juvenile summer flounder from two Atlantic coast nurseries. *Trans. Am. Fish. Soc.* 123, 182-193.
- Malloy, K.D., Yamashita, Y., Yamada, H. & Targett, T.E., 1996. Spatial and temporal patterns of juvenile stone flounder *Kareius bicoloratus* growth rates during and after settlement. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 131, 49-59.
- Manderson, J.P., Phelan, B.A., Meise, C., Stehlik, L.L., Bejda, A.J., Pessutti, J., Arlen, L., Draxler, A. & Stoner, A.W., 2002. Spatial dynamics of habitat suitability for the growth of newly settled winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* in an estuarine nursery. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 228, 227-239.
- Manderson, J.P., Pessutti, J., Meise, C., Johnson, D. & Shaheen P., 2003. Winter flounder settlement dynamics and the modification of settlement patterns by post-settlement processes in a NW Atlantic estuary. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 253, 253-267.
- McMillan, D.N. & Houlihan, D.F., 1989. Short-term responses of protein synthesis to re-feeding in rainbow trout. *Aquaculture* 79, 37-46.

- Meise, C., Collie, J.S., Widman, J. & Howell, P., 1999. Growth and mortality of juvenile winter flounder in two New England estuaries. *Estuaries* 22, 297-303.
- Meise, C.J., Johnson, D.L., Stehlik, L.L., Manderson, J. & Shaheen, P., 2003. Growth rates of juvenile winter flounder under varying environmental conditions. *Trans. Am. Fish. Soc.* 132, 335-345.
- Moles, A. & Norcross, B.L., 1995. Sediment preference in juvenile Pacific flatfishes. *Neth. J. Sea Res.* 34, 177-182.
- Mommsen, T.P., 2001. Paradigm of growth in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 129B, 207-219.
- Munro, H.N. & Fleck, A., 1966. The determination of nucleic acids. In: *Methods of Biochemical Analysis*, Vol XIV (ed. by D. Glick), 113-176 p. Interscience, New York.
- Neuman, M.J. & Able, K.W., 1998. Experimental evidence of sediment preference by early life history stages of windowpane (*Scophthalmus aquosus*). *J. Sea Res.* 40, 33-41.
- Ottesen, O.H. & Strand, H.K., 1996. Growth, development, and skin abnormalities of halibut (*Hyppoglossus hypoglossus* L.) juveniles kept on different bottom substrates. *Aquaculture* 146, 17-25.
- Pearcy, W.G., 1961. Seasonal changes in osmotic pressure of flounder sera. *Science* 134, 193-194.

- Peck, M.A., Buckley, L.J., Caldarone, E.M. & Bengtson, D.A., 2003. Effects of food consumption and temperature on growth rate and biochemical-based indicators of growth in early juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* and haddock *Melanogrammus aeglefinus*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 251, 233-243.
- Pereira, J.J., Goldberg, R., Ziskowski, J.J., Berrien, P.L., Morse, W.W. & Johnson, D.L. 1999. Essential fish habitat source document: winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, life history and habitat characteristics. NOAA Technical Memorandum NMFS-NE-138. U.S. Department of Commerce, September 1999. 18 p.
- Phelan, B.A., Goldberg, R., Bejda, A.J., Pereira, J., Hagan, S., Clark, P. Studholme, A.L., Calabrese, A. & Able, K.W., 2000. Estuarine and habitat-related differences in growth rates of young-of-the-year winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) and tautog (*Tautoga onitis*) in three northeastern US estuaries. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 247, 1-28.
- Phelan, B.A., Manderson, J.P., Stoner, A.W. & Bejda, A.J., 2001. Size-related shifts in the habitat associations of young-of-the-year winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*): field observations and laboratory experiments with sediments and prey. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 257, 297-315.
- Pickering, A.D., 1993. Growth and stress in fish production. Aquaculture 111, 51-63.

- Pitt, K.T., 1990. La plie rouge, le monde sous-marin. Direction générale des communications. Ministère des Pêches et Océan, Ottawa 2 p.
- Plante, S., Audet, C., Lambert, Y. & de la Noue, J., 2002. The effects of two rearing salinities on survival and stress of winter flounder broodstock. *J. Aquat. Anim. Health* 14, 281-287.
- Plante, S., Audet, C., Lambert, Y. & de la Noue, J., 2003. Comparison of stress responses in wild and captive winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus* Walbaum) broodstock. *Aquacult. Res.* 34, 803-812.
- Purchase, C.F. & Brown, J.A., 1997. Growth of juvenile yellowtail flounder (*Pleuronectes ferrugineus*) under three photoperiods. *Bull. Aquacul. Assoc. Canada* 97-2, 51-52.
- Regnault, M., 1976. Influence du substrat sur la mortalité et la croissance de la crevette *Crangon crangon* (L.) en élevage. *Cah. Biol. Mar.* 17, 347-357.
- Scott, W.B. & Scott, M.G., 1988. Atlantic fishes of Canada. *Can. Bull. Fish. Aquat. Sci.* 219, 761 p.
- Seychelles, L., 2003. Influence de la température et de la salinité sur la croissance des juvéniles de plie rouge (*Pseudopleuronectes americanus*) en phase de pré-grossissement et de grossissement. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Rimouski, Rimouski, 56 p.

- Simensen, L.M., Jonassen, T.M., Imsland, A.K. & Stefansson, S.O., 2000. Photoperiod regulation of growth of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* 190, 119-128.
- Sogard, S.M., 1992. Variability in growth rates of juvenile fishes in different estuarine habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 85, 35-53.
- Sokal, R.R. & Rohlf, F.J., 1995. *Biometry* 3rd edition. Freeman, New York, 887 p.
- Statsoft Inc., 1997. Guide de l'utilisateur *STATISTICA*. 542 p.
- Stevens, B.G., 2003. Settlement, substratum preference, and survival of red king crab *Paralithodes camtschaticus* (Tilesius, 1815) glaucothoe on natural substrata in the laboratory. *J. Exp. Mar. Biol. Eco.* 283, 63-78.
- Stickney, R.R. & White, D.B., 1975. Ambicoloration in tank cultured flounder, *Paralichthys dentatus*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 104, 158-160.
- Stoner, A.W., Manderson, J.P. & Pessutti, J.P., 2001. Spatially explicit analysis of estuarine habitat for juvenile winter flounder: combining generalized additive models and geographic information systems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 213, 253-271.
- Stoner, A.W. & Abookire, A.A., 2002. Sediment preferences and size-specific distribution of young-of-the-year Pacific halibut in an Alaska nursery. *J. Fish Biol.* 61, 540-559.

- Stoner, A.W. & Ottmar, M.L., 2003. Relationships between size-specific sediment preferences and burial capabilities in juveniles of two Alaska flatfishes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 282, 85-101.
- Tanaka, M., Kawai, S., Seikai, T. & Burke, J.S., 1996. Development of the digestive organ system in Japanese flounder in relation to metamorphosis and settlement. *Mar. Fresh. Behav. Physiol.* 28, 19-31.
- Takii, K., Seoka, M., Takaoka, O., Furuta, S., Nakamura, M. & Kumai, H., 1994. Chemical composition, RNA and DNA contents, and alkaline phosphatase activity with growth of striped jack larvae through juveniles. *Fisheries Sci.* 60, 73-76.
- Vaillancourt, R., 1982. Contribution à l'étude biologique de la population de plies rouges, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum), de la région de Saint-Fabien-sur-Mer, Québec. Mémoire de maîtrise, Université du Québec à Rimouski, Rimouski. 172 p.
- Vaillancourt, R., Brêthes, J.-C.F. & Desrosiers, G., 1985. Croissance de la plie rouge (*Pseudopleuronectes americanus*) de l'estuaire du Saint-Laurent. *Can. J. Zool.* 63, 1610-1616.
- Van Guelpen, L. & Davis, C.C., 1979. Seasonal movements of the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*, in two contrasting inshore locations in Newfoundland. *Trans. Am. Fish. Soc.* 108, 26-37.

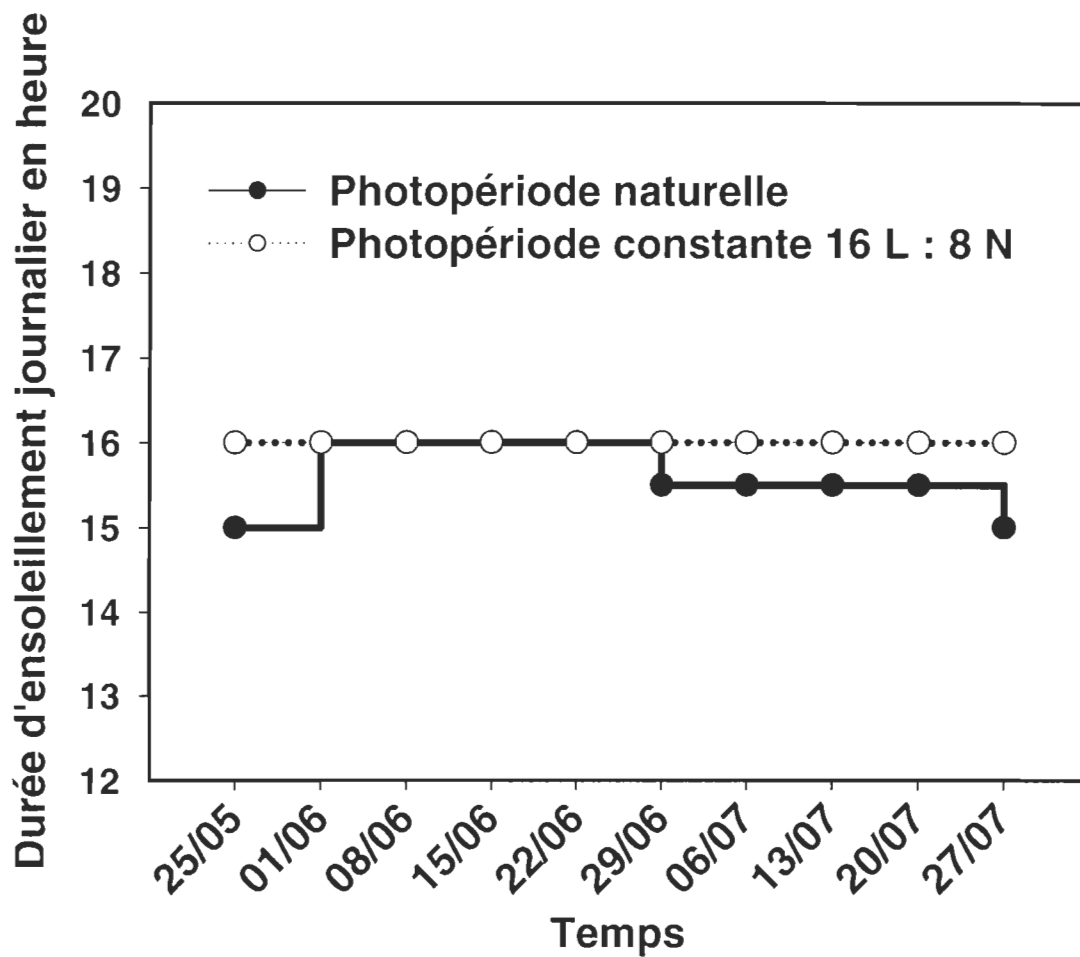
Woiwode, J.G. & Adelman, I.R., 1991. Effects of temperature, photoperiod, and ration size on growth of hybrid striped bass x white bass. *Trans. Am. Fish. Soc.* 120, 217-229.

Yamashita, Y., Tanaka, M. & Miller, J.M., 2001. Ecophysiology of juvenile flatfish in nursery grounds. *J. Sea Res.* 45, 205-218.

RÉFÉRENCES ÉLECTRONIQUES

National Marine Fisheries Service's – Fishery Market News. Primary Wholesale Selling Prices on New York Fulton Fish Market. (Page consultée le 12 septembre 2003). Adresse URL: http://www.st.nmfs.gov/st1/market_news/doc21.txt

ANNEXE



Annexe 1 Régime de lumière pour les deux traitements photopériodiques au cours deux mois d'expérimentation du 26 mai au 27 juillet 2003.