

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

**Apport maternel chez la balane tropicale :  
Plasticité de l'allocation de la ressource trophique pour la  
production larvaire en conditions de limitation nutritionnelle et  
de stress environnemental**

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en Océanographie

en vue de l'obtention du grade de maître ès Sciences

PAR

© Florian Freuchet

Janvier 2014

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.



**Composition du jury :**

**Philippe Archambault, président du jury** Université du Québec à Rimouski

**Réjean Tremblay, directeur de recherche** Université du Québec à Rimouski

**Augusto Flores, codirecteur de recherche** Université de São Paulo

**Frédéric Olivier, examinateur externe** Muséum National d'Histoire Naturelle

Dépôt initial le 23 janvier 2014

Dépôt final le



À Joseph



## REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Philippe Archambault et Frédéric Olivier d'avoir accepté de se joindre à l'évaluation de ce mémoire.

Je remercie sincèrement mes directeurs Réjean Tremblay et Augusto Flores. Merci à Réjean de m'avoir ouvert les portes de son laboratoire et de m'avoir permis de réaliser ce projet. Je lui suis profondément reconnaissant de m'avoir donné tous les outils nécessaires à la réalisation de cette maîtrise. Les nombreuses méthodes qu'il m'a appris m'ont permis, et me permettront, grandement d'améliorer ma technique et mon esprit critique. Ce fut un réel plaisir de travailler à ses côtés. Un gros merci pour toutes les opportunités que tu m'as offert : les présentations au RAQ, les collaborations, les formations, le projet homard... Je remercie également Augusto pour son expertise, son soutien perpétuel et son enthousiasme contagieux. Je le remercie aussi de m'avoir fait découvrir et fait tomber sous le charme de ce pays magnifique qu'est le Brésil. Merci à mes directeurs de me donner la possibilité d'y retourner...

Muito obrigado à toute l'équipe du CEBIMar à São Sebastião. Merci à la formidable équipe de techniciens: Joseilto Medeiros de Oliveira, Elso Alves da Silva, Eduardo Honuma et une pensée particulière à Joseph Van Sebroeck emporté beaucoup trop vite. Rien n'aurait été possible sans votre incroyable imagination et votre flexibilité. Un immense merci à Pedro Guerra et Jandyr « Jajá » de Almeida Rodrigues Filho, qui m'ont accueilli les bras ouverts en me faisant une place dans leur vie, et m'ont épaulé à chaque étape. Je remercie très chaleureusement mon amie Paula Kasten pour tous ses conseils et son aide essentielle tout au long de mon projet. Le partage de nos cultures et de nos mondes furent des moments savoureux. Merci Sol, Serginho, Bruno, Kath', Sayão (et chica), Danilo



et Chuca pour m'avoir fait découvrir les joies de la vie brésilienne, nos chemins se recroiseront bientôt.

Je remercie également tout le laboratoire d'aquaculture de l'ISMER pour leurs conseils et leur aide précieuse. Je pense tout particulièrement à Sahar Mejri, Iften Redjah, Bertrand Genard, Jory Cabrol et Jean-Bruno Nadalini. Un merci spécialement à Mathieu Babin pour ses conseils, ses idées, sa disponibilité et son travail exceptionnel sur les lipides.

Un gros merci à toute la gang de l'ISMER et tous les pirates de Rimouski pour leur amitié et sans qui les 5 à 7 n'auraient jamais eu la même saveur.

Enfin merci à mes très chère.s coloc' Elliott, PAD, Ève, Fanny, Claude, Val' et Gégé pour leur soutien contre vents et marées et pour tout ce qu'ils n'imaginent pas m'avoir apporté.

Obrigado meu querida amiga Clara para revisão de minha memória. Sem-medos não temem o futuro...



## RÉSUMÉ

Dans le milieu marin, l'abondance du recrutement dépend des processus qui vont affecter les adultes et le stock de larves. Sous l'influence de signaux fiables de la qualité de l'habitat, la mère peut augmenter (effet maternel anticipatoire, 'anticipatory mother effects', AME) ou réduire (effet maternel égoïste, 'selfish maternal effects', SME) la condition physiologique de la progéniture. Dans les zones tropicales, généralement plus oligotrophes, la ressource nutritive et la température sont deux composantes importantes pouvant limiter le recrutement. Les effets de l'apport nutritionnel et du stress thermique sur la production de larves et sur la stratégie maternelle adoptée ont été testés dans cette étude. Nous avons ciblé la balane *Chthamalus bisinuatus* (Pilsbry) comme modèle biologique car elle domine les zones intertidales supérieures le long des côtes rocheuses du Sud-Est du Brésil (région tropicale). Les hypothèses de départ stipulaient que l'apport nutritionnel permet aux adultes de produire des larves de qualité élevée et que le stress thermique génère une ponte précoce, produisant des larves de faible qualité. Afin de tester ces hypothèses, des populations de *C. bisinuatus* ont été élevées selon quatre groupes expérimentaux différents, en combinant des niveaux d'apport nutritionnel (élevé et faible) et de stress thermique (stressé et non stressé). Des mesures de survie et de conditions physiologiques des adultes et des larves ont permis d'identifier les réponses parentales pouvant être avantageuses dans un environnement tropical hostile. L'analyse des profils en acides gras a été la méthode utilisée pour évaluer la qualité physiologique des adultes et de larves. Les résultats du traitement alimentaire (fort ou faible apport nutritif), ne montrent aucune différence dans l'accumulation de lipides neutres, la taille des nauplii, l'effort de reproduction ou le temps de survie des nauplii en condition de jeûne. Il semble que la faible ressource nutritive est compensée par les mères qui adoptent un modèle AME qui se traduit par l'anticipation du milieu par les mères afin de produire des larves au phénotype approprié. À l'ajout d'un stress thermique, on observe des diminutions de 47% de la production de larves et celles-ci étaient 18  $\mu\text{m}$  plus petites. Les mères semblent utiliser un modèle SME caractérisé par une diminution de la performance des larves. Suite à ces résultats, nous émettons l'hypothèse qu'en zone subtropicale, comme sur les côtes de l'état de São Paulo, l'élévation de la température subie par les balanes n'est, *a priori*, pas dommageable pour leur organisme si elle est combinée à un apport nutritif suffisant.

**Mots clés :** Effet maternel, *Chthamalus bisinuatus*, acide gras, stress thermique, apport nutritionnel, zone tropicale.



## ABSTRACT

In marine environment, the recruitment success depends on processes affecting adults and larvae stock. Under low quality habitat cues, mothers can increase ('anticipatory mother effects', AME) or decrease ('selfish maternal effects', SME) offspring's physiologic conditions. In tropical areas, generally oligotrophic, nutritive resource and temperature are two important components that might limit the recruitment. Food supply and thermal stress effect on reproduction effort and the maternal strategy adopted was therefore tested. We used the acorn barnacle *Chthamalus bisinuatus* (Pilsbry) as biological model because it is the most abundant organism in the upper midlittoral zone along rocky coastlines in South-eastern Brazil (tropical zone). The assumptions stipulated that food supply allows adult to produce high quality larvae and that thermal stress lead to an early spawning, producing low quality larvae. In order to test these hypothesis, *C. bisinuatus* populations were reared under four different experimental conditions, combining two levels of food supply (high and low) and thermal stress (stressed and unstressed). Adults and larval survival and physiological conditions were measured to identify parental responses that might be advantageous in a hostile tropical environment. Fatty acids profiles analyses were the method used to evaluate adults and larval physiological quality. Results from the food treatment (high and low food supply), show no difference in neutral lipids accumulation, nauplii size, reproduction effort and larval survival in fasting condition. It seems that the low food supply is compensated by mothers who use an AME model that results to environment anticipation by mothers to produce larvae with the appropriate phenotype. Under thermal stress, we observe a 47% decrease of larval production and they were 18  $\mu\text{m}$  smaller. Mothers seem to use a SME model characterized by a decrease in larval fitness. Based on those results, we suggest that in a subtropical coastline, like the São Sebastião Channel, high temperatures experienced by *Chthamalus bisinuatus* may not be *a priori* harmful if adequate food supply is provided.

**Keywords :** Maternal effect, *Chthamalus bisinuatus*, fatty acid, thermal stress, food supply, tropical area



## TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS .....	ix
RÉSUMÉ .....	xiii
ABSTRACT.....	xv
TABLE DES MATIÈRES.....	xvii
LISTE DES TABLEAUX.....	xx
LISTE DES FIGURES .....	xxii
INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
CHAPITRE 1 .....	15
<b>Apport maternel chez la balane tropicale : Plasticité de l'allocation de la ressource trophique pour la production larvaire en conditions de limitation nutritionnelle et de stress environnemental.....</b>	<b>15</b>
RESUME EN FRANÇAIS DU PREMIER ARTICLE .....	15
<b>MATERNAL INPUT IN A TROPICAL BARNACLE: PLASTICITY IN TROPHIC RESOURCE   ALLOCATION FOR LARVAL PRODUCTION IN NUTRITIONAL LIMITATION   CONDITIONS AND ENVIRONMENTAL STRESS .....</b>	<b>17</b>
ABSTRACT .....	18
INTRODUCTION .....	19
MATERIALS AND METHODS .....	22
<b>Sampling of adult populations and natural seston .....</b>	<b>22</b>
<b>Experimental setup.....</b>	<b>22</b>
<b>Response variables .....</b>	<b>23</b>
<b>Statistical analyses.....</b>	<b>26</b>

<b>RESULTS .....</b>	<b>27</b>
<b>Effect of laboratory acclimation .....</b>	<b>27</b>
<b>Impact on mortality and larval productivity .....</b>	<b>30</b>
<b>Impact on fatty acids profiles .....</b>	<b>33</b>
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>37</b>
<b>Impact of food supply .....</b>	<b>37</b>
<b>Impact of thermal stress.....</b>	<b>40</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>42</b>
<b>ACKNOWLEDGMENTS: .....</b>	<b>43</b>
<b>CHAPITRE 2 CONCLUSION.....</b>	<b>45</b>
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>52</b>



## LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1 : Composition en acides gras des fractions lipidiques neutres et polaires dans le mélange de microalgues et le seston naturel (moyenne + erreur type). Les valeurs sont exprimées en pourcentage du total. Chaque acide gras représentant moins de 2% du total dans chaque catégorie (microalgues ou seston naturel) ont été retirés. SFA = acide gras saturés; MUFA = acide gras monoinsaturés; PUFA = acide gras polyinsaturés; EFA = acide gras essentiels; AA = acide arachidonique (20:4n6); EPA = acide eicosapentaénoïque (20:5n3); DHA = acide docosahexaénoïque (22:6n3). Squared data correspond to FA that contribute most to the dissimilarity between groups according to the SIMPER analysis.....28
- Tableau 2 : Composition en acides gras des fractions lipidiques neutres et polaires chez les adultes à T<sub>-1</sub>, T<sub>0</sub> et TS (moyenne pour les 3 périodes de stress, tous les facteurs confondus) ; les nauplii à T<sub>0</sub> et TS (moyenne pour les 3 périodes de stress, tous les facteurs confondus) et sur le terrain ; (moyenne + erreur type). Les valeurs sont exprimées en pourcentage du total. Chaque acide gras représentant moins de 2% du total dans chaque catégorie (adultes et nauplii) ont été retirés. SFA = acide gras saturés; MUFA = acide gras monoinsaturés; PUFA = acide gras polyinsaturés; EFA = acide gras essentiels; AA = acide arachidonique (20:4n6); EPA = acide eicosapentaénoïque (20:5n3); DHA = acide docosahexaénoïque (22:6n3). Squared data correspond to FA that contribute most to the dissimilarity between groups according to the SIMPER analysis.....29



## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Facteurs abiotiques et biotiques influençant le recrutement, modifié de Toupoint 2011.....	2
Figure 2: Schéma récapitulatif des principales stratégies d'allocation maternelle de la ressource énergétique .....	4
Figure 3 : Température moyenne de l'air en janvier (en haut) et en juillet (en bas). Le gradient de couleur correspond au températures estimées (en °C), (Covey et al. 2000). .....	5
Figure 4 : Température moyenne annuelle de surface de la mer entre 1971 et 2000. Le gradient de couleur correspond aux températures estimées (en °C), (NOAA 2002). .....	6
Figure 5 : Moyenne annuelle de la production primaire estimée par la respiration (en grammes de carbone.m-2.jour) avec le modèle physico-biogéochimique du Hadley Center Ocean Carbon Cycle (HardOCC, en haut) et les données de Longhurst et al. (1995) obtenues par radiométrie multicanal à balayage de type Coastal Zone Color Scanner (CZCS, en bas) (Palmer & Totterdell 2001). .....	7
Figure 6 : Schéma de la balane tropicale <i>Chthamalus bisinuatus</i> (à gauche, Farrapeira et al. 2009) et structure et morphologie type d'une balane, exemple de la balane <i>Balanus trigonus</i> (à droite, Anderson 1994) : (a) vue apicale; (b) vue latérale gauche; (c) opercule, corps et branchies. br = branchie; c = carène; cl = catino-latérale; cr = rostre; l = latérale; op = opercule; pr = prosoma; s = scutum; tergum; tdi = depresseur du tergum. ....	9

Figure 7 : Cycle de vie typique d'une balane. Après la libération d'un nauplius, cinq stades larvaire vont suivre. Au sixième stade, le nauplius se métamorphose en cypride. Après une phase d'exploration du substrat, la cypride se fixe et se métamorphose en jeune adulte (Pechenik et al. 1998).....10

Figure 8 : Variables environnementales enregistrées entre le 29 janvier et le 1<sup>er</sup> mars 2011 le long de la côte de São Sebastião. (A) Températures moyennes et extrêmes, au 97.5ème centile (P97.5) sur la surface rocheuse où les populations de balanes *C. bisinuatus* étaient établies. (B) Concentration en chlorophylle a  $\pm$  erreur type. La ligne pointillée correspond à la valeur moyenne (Kasten & Flores 2013). ..... 11

Figure 9: Mortalité des adultes en pourcentage par jour (moyenne + erreur type) du jour 0 à 41 et du jour 42 à 62 selon le traitement thermique (A). Effort reproductif en individus par centimètre carré couvert de balanes vivantes selon le traitement thermique (B). En blanc, le traitement control et en noir le traitement stress. \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,001$ ; ns = non significatif. ....30

Figure 10 : (A) Taille des nauplii (moyenne + erreur type) en micromètres, dans le traitement control et stress selon le traitement alimentaire. En blanc, le faible apport nutritionnel et en noir le fort apport alimentaire. \*  $p < 0,05$ ; ns = non significatif. (B) Taille des nauplii (moyenne + erreur type) en micromètres, tous facteurs confondus, selon le temps. Les lettres indiquent des différences significatives dans le traitement temps .....31

Figure 11 : Temps de survie des nauplii, en jours (moyenne + erreur type) dans le traitement control et stress, selon la disponibilité de la nourriture (A). Temps de survie des nauplii, en jours (moyenne + erreur type) dans le temps, selon la disponibilité de la nourriture (B). En blanc, le faible apport nutritionnel et en noire la fort apport nutritionnel . \*\*  $p < 0,001$ ; ns = non significatif. ....32

Figure 12 : Masse totale des acides gras en microgramme par milligramme de poids humide balanes adultes (moyenne + erreur type), selon le temps. Les lettres indiquent des différences significatives dans les différents temps..... 33

Figure 13 : Ratio de l'assemblage des acides gras essentiels polaires chez les adultes sur les acides gras essentiels polaires de l'apport nutritif (moyenne + erreur type), dans le temps, selon l'apport nutritionnel, pour le traitement control (A) et stress (B). AA = acide arachidonique (20:4n6); EPA = acide eicosapentaénoïque (20:5n3); DHA = acide docosahexaénoïque (22:6n3). En blanc, le faible apport nutritionnel et en noire le fort apport nutritionnel. \*  $p < 0.05$ ; ns = non significatif.....35

Figure 14 : Ratio de l'assemblage des acides gras essentiels neutres chez les adultes sur les acides gras essentiels neutres chez les nauplii (moyenne + erreur type), dans le temps. AA = acide arachidonique (20:4n6); EPA = acide eicosapentaénoïque (20:5n3); DHA = acide docosahexaénoïque (22:6n3). Les lettres indiquent des différences significatives entre les différents temps.....36





## INTRODUCTION GÉNÉRALE

La majorité (plus de 70%) des invertébrés marins sessiles produisent des larves planctoniques (Thorson 1949). Bien que peu de données existent en milieu naturel, la survie des larves est généralement considérée faible (< 10%, Schneider et al., 2003 ; Pechenik et al. 1998). De nombreux facteurs exo- et/ou endogènes peuvent affecter le développement larvaire (Widdows 1991). Après une période d'exploration active du substrat par la larve compétente, les survivantes concluent leur cycle larvaire par le stade de fixation et de métamorphose (Yamamoto et al. 1999). Le taux de mortalité durant la métamorphose est aussi élevé (Thorson, 1966 ; Gosselin & Qian 1997). En conditions contrôlées, cette mortalité a été estimée à plus de 50% (Gagné et al. 2010). Les patrons du recrutement des organismes benthiques, sont le résultat de la sélection d'un substrat approprié par les larves sous l'influence de nombreux facteurs biotiques et abiotiques (Figure 1). Un événement durant le développement larvaire et post-larvaire peut avoir des conséquences importantes sur la vie post-métamorphique de l'organisme. La reproduction est la première composante du recrutement puisque sans apport larvaire il n'y a pas de fixation (Hughes et al. 2000). Cependant, l'apport larvaire n'est pas toujours corrélé avec la fixation (Olivier et al. 2000; Pineda et al. 2010, Toupoint et al. 2012). Ainsi, le niveau de recrutement va donc dépendre des processus qui vont affecter les adultes et le stock de larves (Pechenik et al. 1993, 1998, Qian & Pechenik 1998, Marshall, Pechenik, et al. 2003).

Parmi les facteurs abiotiques (Figure 1), l'hydrodynamisme est souvent considéré comme le régulateur le plus important du recrutement (Koehl & Reidenbach 2007, Shanks 2009a, b, Shanks & Shearman 2009, Koehl & Hadfield 2010) puisqu'il influence directement la disponibilité et l'abondance larvaire et peut être responsable du décrochement des organismes fixés et métamorphosés (Alfaro 2005, 2006). Le flux larvaires est aussi un facteur qui peut avoir un effet, plus ou moins direct, sur les

invertébrés benthiques à une petite échelle spatiale (< m) (Eckman 1987 ; Harvey et al. 1995, Archambault & Bourget, 1999). Le substrat est également un élément qui influe sur la fixation, puisque la forme et la nature de celui-ci agit sur l'hydrodynamisme local (Rittschof et al. 2007) et sur la force d'attachement de l'organisme sur celui-ci (Dobretsov & Railkin 1996, Harvey & Bourget 1997, Dobretsov & Wahl 2001). Enfin, la température, la salinité, la concentration en oxygène et en polluants sont d'autres facteurs abiotiques ayant une forte influence sur l'ontogénie larvaire et post-larvaire (Incze et al. 1980, Widdows 1991, Alfaro 2005).

En ce qui concerne les facteurs biotiques, la prédation est une composante importante de la limitation du recrutement, car les premiers stades sont des proies fortement ingérées (Davenport et al. 2000). Aussi les ressources énergétiques peuvent devenir critiques pour les larves qui atteignent leur site de fixation (Tremblay, Olivier, et al. 2007, Gagné et al. 2010, Toupoint et al. 2012). Une faible accumulation d'énergie limite le comportement de recherche du substrat et le succès de métamorphose en juvénile, cette dernière nécessitant beaucoup de ressource énergétique (Pernet et al. 2003). La ressource nutritive est aussi un élément essentiel pour un développement larvaire optimal. L'apport énergétique transmis par la nourriture a une influence majeure sur la condition physiologique des larves (Thiyagarajan et al. 2005). Enfin, les relations intraspécifiques et les biofilms peuvent aussi être cités comme facteurs ayant une influence sur le recrutement puisqu'il vont agir sur le comportement des larves (Keough 1998, Erlandsson & McQuaid 2004, Erlandsson et al. 2005).

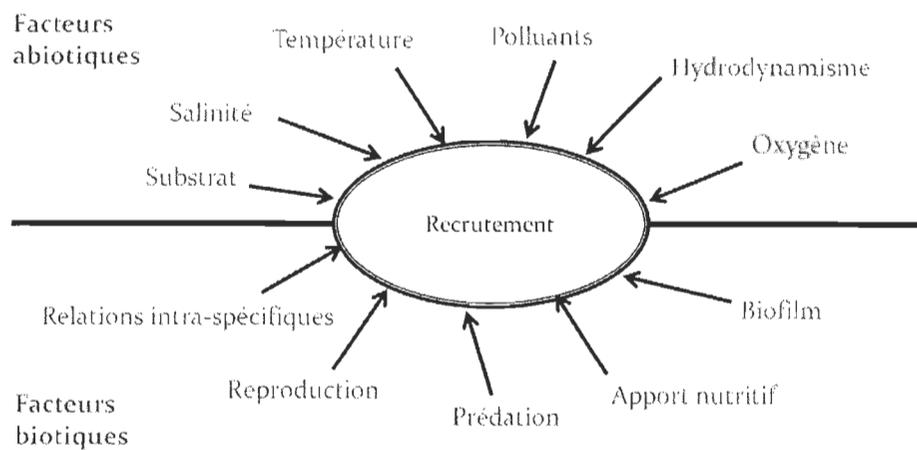


Figure 1: Facteurs abiotiques et biotiques influençant le recrutement, modifié de Toupoint 2011.

Les conditions environnementales subies par la mère se traduisent à la descendance sous forme de variation phénotypique (Mousseau & Fox 1998). Sous l'influence de signaux fiables de la qualité de l'habitat, la mère peut augmenter (effet maternel anticipatoire, 'anticipatory mother effects', AME) ou réduire (effet maternel égoïste, 'selfish maternal effects', SME) la condition physiologique de la progéniture. Dans le cas de conditions variables de l'environnement, la sélection peut favoriser les mères qui produisent une descendance ayant une gamme de phénotypes maximisant la probabilité de leur survie, par exemple via un transfert plus important de réserves énergétiques (effet maternel de pari sur l'investissement, 'bet-hedging maternal effect', BME). Sous certaines conditions, la variation de l'environnement affecte le phénotype maternel qui sera transmis à la descendance (effet maternel de transmission, 'transmissive maternal effect', TME), comme pour la transmission de pathogénies maternelles. L'AME, SME et BME vont avoir pour effet d'augmenter la performance maternelle, mais seulement l'AME améliore la performance de la descendance (Marshall & Uller 2007, Figure 2). Dans d'autres cas, la qualité des larves peut rester inchangée par l'action tampon de la mère face aux variations environnementales en réduisant leur propre croissance et leur métabolisme ou en diminuant leur effort reproducteur. Sous certaines conditions extrêmes présentant un risque de mortalité important pour les adultes, les ressources énergétiques peuvent être rapidement dirigées vers la reproduction. Ce qui peut être interprété comme un investissement final en réponse à une menace mortelle (Cotter et al. 2010). Les indices de risques tels que l'activation du système immunitaire signalant une infection (Cotter et al. 2010), les blessures (Javoš & Tammaru 2004) ou des conditions climatiques hasardeuses (Roitberg et al. 1993) peuvent déclencher un investissement final pour la reproduction et ainsi accroître la performance dans des conditions de faible espérance de vie. À notre connaissance, il n'existe aucune information concernant l'effet de la manipulation parentale sur la qualité de la descendance d'invertébrés marins. Donc on peut se demander à quel point la mère peut manipuler la qualité de sa progéniture quand elle est exposée à des conditions défavorables. L'amélioration de la performance de la descendance soutiendra un AME, alors que la

diminution de la performance de la progéniture indiquera un SME où la mère investira sur sa propre performance (pour soutenir sa croissance et sa survie).

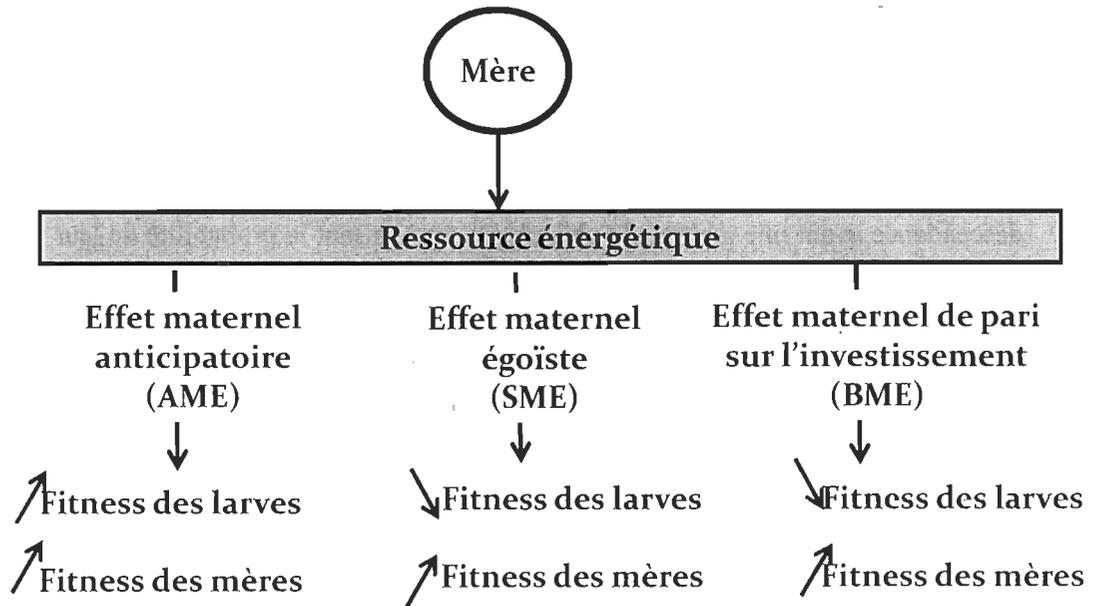


Figure 2: Schéma récapitulatif des principales stratégies d'allocation maternelle de la ressource énergétique

La température et l'apport nutritif sont des paramètres qui varient à l'échelle planétaire. Les zones polaires, comprises entre 66 et 90° de latitude au Nord et au Sud, sont les régions les plus froides. Les températures moyennes annuelles de l'air fluctuent de <-35 à 10°C (Figure 3) et celles des eaux de surface de <0 et 8°C en moyenne sur une année (Figure 4). Dans ces hautes latitudes, généralement plus oligotrophes, la production primaire moyenne annuelle oscille entre < 0,4 à < 0,1 g de carbone.m<sup>-2</sup>.jour<sup>-1</sup> (Figure 5, Longhurst et al. 1995, Palmer et Totterdell, 2001).

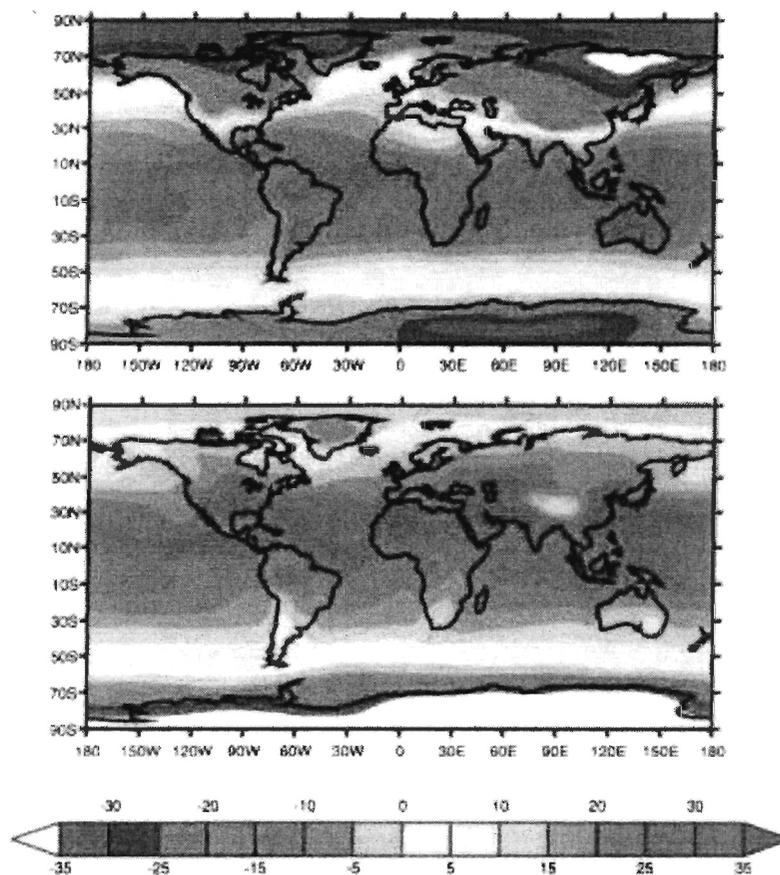


Figure 3: Température moyenne de l'air en janvier (en haut) et en juillet (en bas). Le gradient de couleur correspond aux températures estimées (en °C), (Tiré de Covey et al. 2000)

Au contraire, les régions tempérées (de 66° à 40° de latitude au Nord et au Sud) sont des zones de forte production primaire, avec en moyenne annuelle 0,2 à > 0,8 g de carbone.m<sup>-2</sup>.jour<sup>-1</sup> selon les modèles (Figure 5). La température moyenne annuelle de l'air dans les zones tempérées varie de manière plus importante selon la saison et diffère à l'hémisphère Nord (HN, entre -35 et 15°C) et à l'hémisphère Sud (HS, entre -15 et 15°C) (Figure 3). Dans cette zone plus douce, la température de surface de la mer (SST) moyenne annuelle oscille entre 4 et 20°C (Covey et al. 2000, NOAA 2002, Figure 4).

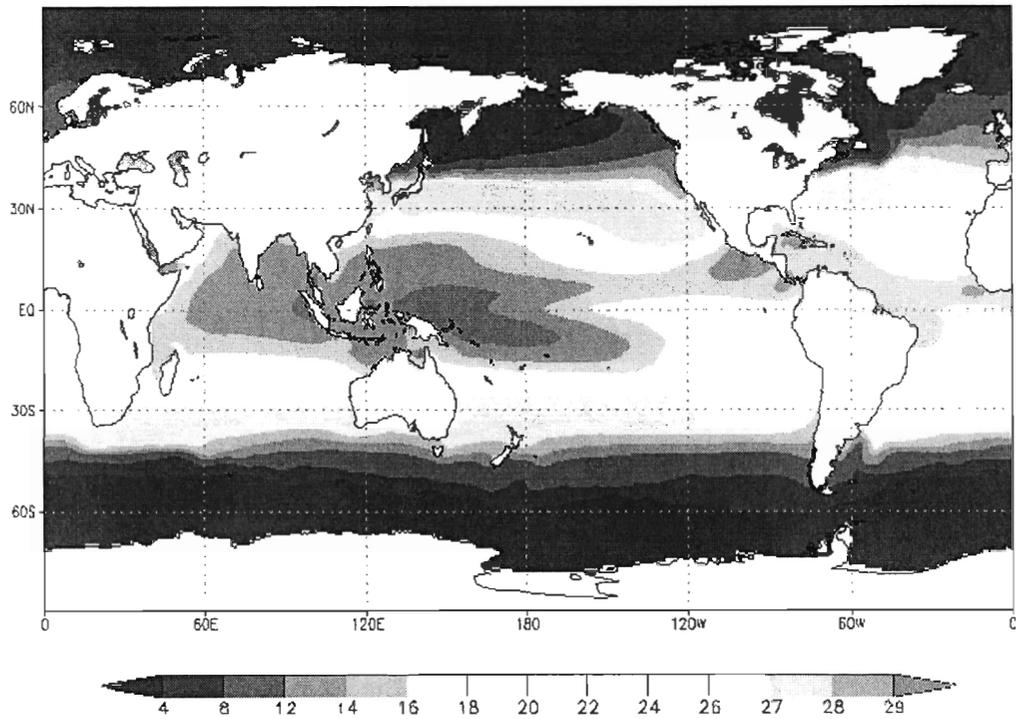


Figure 4: Température moyenne annuelle de surface de la mer entre 1971 et 2000. Le gradient de couleur correspond aux températures estimées (en °C), (Tiré de NOAA 2002)

La région intertropicale, située entre 23,5° de latitude Nord et 23,5° de latitude Sud, est la zone la plus chaude de la surface du globe. La température moyenne annuelle de l'air varie seulement entre 25 et >35°C (Figure 3) tandis que la SST moyenne annuelle oscille entre 22 et 29 °C (Figure 4). La production primaire annuelle est, en général, relativement plus élevée dans la zone équatoriale (> 0,8 à 0,2 g de carbone.m<sup>-2</sup>.jour<sup>-1</sup>) alors qu'elle peut être relativement faible en s'approchant des tropiques (> 0,1 à 0,4 g de carbone.m<sup>-2</sup>.jour<sup>-1</sup>, Figure 5).

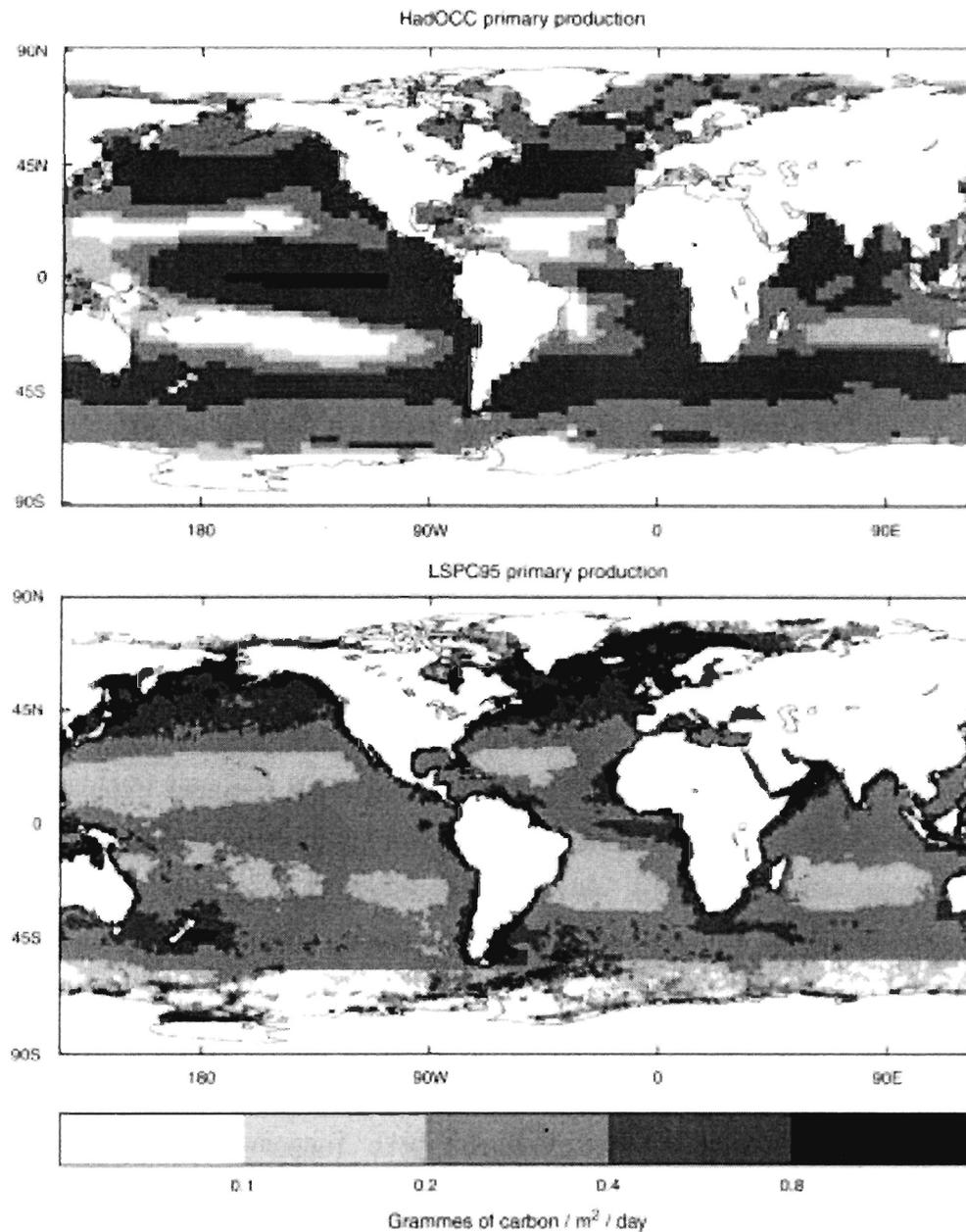


Figure 5: Moyenne annuelle de la production primaire estimée par la respiration (en grammes de carbone.m-2.jour) avec le modèle physico-biogéochimique du Hadley Center Ocean Carbon Cycle (HadOCC, en haut) et les données de Longhurst et al. (1995) obtenues par radiométrie multicanal à balayage de type Coastal Zone Color Scanner (CZCS, en bas) (Tiré de Palmer & Totterdell 2001)

Enfin, les zones subtropicales (40° à 23,5° de latitude au Nord et au Sud) sont des régions de plus faibles productivités (Marañón et al. 2000, Palmer & Totterdell 2001). A l'instar des hautes latitudes, la production primaire moyenne annuelle oscille entre  $< 0,4$  à  $< 0,1$  g de carbone.m<sup>-2</sup>.jour (Longhurst et al. 1995, Palmer & Totterdell 2001, Figure 5). Dans ces régions relativement chaudes (entre 15 et 35°C de moyenne annuelle, Figure 3), la SST moyenne annuelle oscille entre 16 et 27°C (Figure 4). Malgré la variabilité temporelle, la croissance du phytoplancton est plus ralentie dans les régions tropicales et subtropicales de l'Océan Atlantique que dans les régions tempérées (Palmer & Totterdell 2001). Marañón et al. (2000) ont estimé que le phytoplancton en région tropicale et subtropicale atteignait seulement 16% de son taux de croissance maximale. Ainsi, les océans tropicaux sont des zones couramment oligotrophes où les invertébrés marins doivent faire face à la limitation en nourriture et sa microrépartition (Eckert 1995, Marañón et al. 2000, Palmer & Totterdell 2001).

Dans cette étude, nous allons discuter de l'effet de l'apport nutritionnel et du stress thermique sur la production de larves, notamment sur la stratégie maternelle adoptée en fonction de ces facteurs en région tropicale. Parce que la ressource trophique peut y être limitée et la température suffisamment élevée pour accroître sérieusement le taux de mortalité des organismes intertidaux, surtout en émergence (Thiyagarajan et al. 2000), nous suggérons que ces éléments sont déterminants lors du recrutement. De nombreux articles ont été publiés en milieu tempéré sur les facteurs affectant la survie des larves d'invertébrés marins et l'accumulation des réserves énergétiques, tels les lipides (Whyte et al. 1992, Pernet et al. 2003, Langdon et al. 2004, Sewell 2005, Tremblay, Cartier, et al. 2007, Gagné et al. 2010, Génard et al. 2011, Toutpoint 2011, Toutpoint et al. 2012) mais très peu concernent le milieu tropical.

Nous avons ciblé la balane *Chthamalus bisinuatus* (Pilsbry) comme modèle biologique car elle est l'organisme dominant les zones intertidales supérieures le long des côtes rocheuses du Sud-Est du Brésil (région tropicale) avec un recouvrement du substrat allant de 50 à 80% (Christofoletti et al. 2010). Elle peut cependant être en compétition avec

une autre espèce de balane, *Tetraclita stalactifera*, ou des bivalves comme la moule *Brachidontes solisianus* (Eston et al. 1986, Christofolletti et al. 2010, Kasten & Flores 2013)

.Les balanes sont des organismes sessiles qui croissent directement sur le substrat où elles sont fixées (Anderson 1994). Elles sont aussi majoritairement suspensivores et se nourrissent grâce à leurs cirres en forme de panaches. Ces cirres vont effectuer des battements avec un rythme plus ou moins soutenu selon le besoin nutritionnel. Les balanes vont ainsi capturer les particules alimentaire contenues dans l'écoulement d'eau générée par le battement des cirres (Anderson 1994, Anderson & Buckle 1983). La coquille qui entoure le corps de la balane est composée du rostre, de deux plaques latérales, de la carène et deux plaques carino-latérales (Figure 6). Au sommet de ces plaques, on retrouve l'opercule dont le diamètre peut être mesuré pour suivre la croissance de l'organisme (Otway & Anderson 1985). L'opercule reste fermé durant l'émersion mais s'ouvre lorsque l'individu est immergé, afin de se nourrir et de se reproduire (Anderson 1994). La plupart des balanes sont hermaphrodites et vont se reproduire durant l'immersion avec les individus avoisinants.

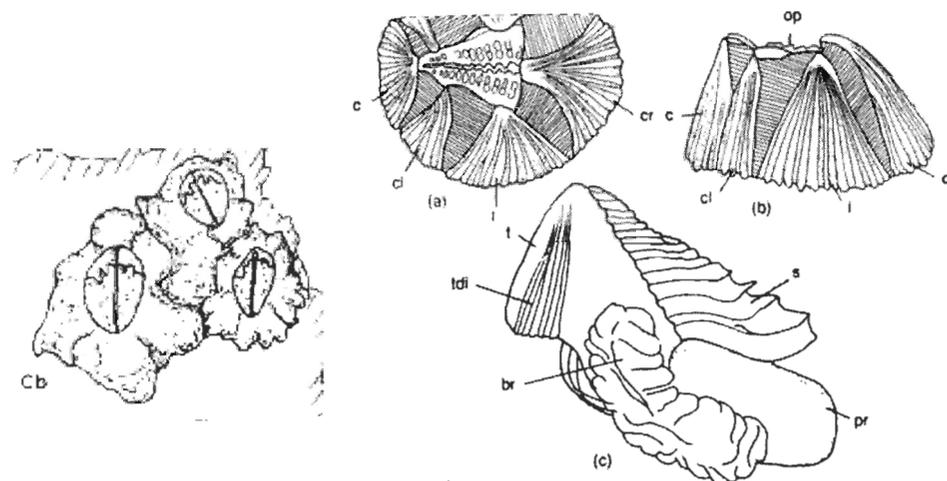


Figure 6: Schéma de la balane tropicale *Chthamalus bisinuatus* (à gauche, Farrapeira et al. 2009) et structure et morphologie type d'une balane, exemple de la balane *Balanus trigonus* (à droite, tiré de Anderson 1994) : (a) vue apicale; (b) vue latérale gauche; (c) opercule, corps et branchies. br = branchie; c = carène; cl = carino-latérale; cr = rostre; l = latérale; op = opercule; pr = prosoma; s = scutum; tégum; tdi = tégum

Les balanes sessiles font partie de ces espèces marines avec un cycle de vie complexe (Figure 7). Elles sont soumises à deux phases larvaires : le stade nauplius et le stade cypris (Lee & Kim 1991, Chan 2003). Le premier nauplius natatoire est dispersé dans le plancton et mue six fois jusqu'au stade cypris. Ensuite, la cypris se spécialise dans l'exploration du substrat, se lie à celui-ci où elle se métamorphose en adulte (Lewis 1975, Barnes & Achituv 1981, Lee & Kim 1991, Anderson 1994). Comme les cypris ne s'alimentent pas, la quantité de réserve en énergie à ce stade avancé dépend de l'histoire embryonnaire (maternelle) et de l'alimentation des nauplii (pélagique) (Holm et al. 2000, Thiyagarajan et al. 2002).

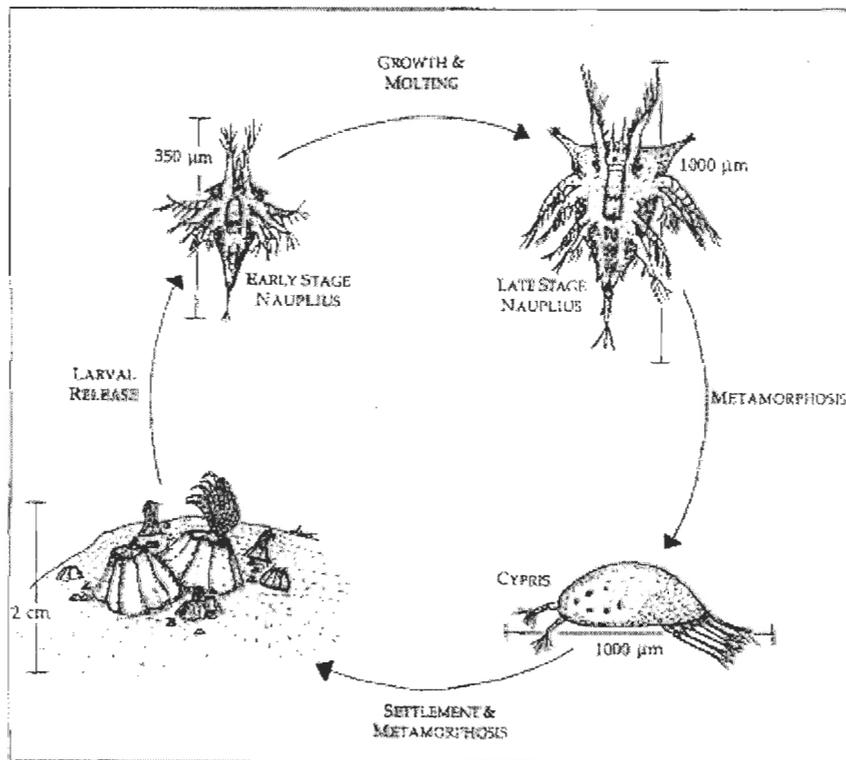


Figure 7: Cycle de vie typique d'une balane. Après la libération d'un nauplius, cinq stades larvaires vont suivre. Au sixième stade, le nauplius se métamorphose en larve cypris. Après une phase d'exploration du substrat, la cypris se fixe et se métamorphose en jeune adulte (tiré de Pechenik et al. 1998)

Le cycle de vie court et le recrutement effectif tout au long de l'année (Eston et al. 1986) de la balane *Chthamalus bisinuatus* facilitent la manipulation et la mise en place d'un modèle expérimental. De plus, cette espèce se situe dans une zone où les ressources

phytoplanctoniques peuvent être faibles (Eckert 1995, Marañón et al. 2000, Palmer & Totterdell 2001, Kasten & Flores 2013) et le stress thermique important (Tanaka & Duarte 1998, Kasten & Flores 2013). En effet, dans cette région, des températures au-dessus de 36°C ont été enregistrées sur les roches recouvertes de balanes à la marée basse (Figure 6, A; Kasten & Flores 2013). Régulièrement les températures dépassent 45°C pendant deux heures (communication personnelle Kasten et Flores). Or, il a été démontré que les balanes adultes subissent une température à l'intérieur de leur coquille 15% supérieure à celle enregistrée sur les rochers (Chan et al. 2006). Des prélèvements de chlorophylle-a effectués dans cette région révèle une concentration moyenne de 1,2  $\mu\text{g.l}^{-1}$  et variant entre près de 0,4 à plus de 2,4  $\mu\text{g.l}^{-1}$ . Ce qui confirme la limitation et la variabilité de la ressource phytoplanctonique, suggérant le caractère oligotrophique de cette zone (Figure 6, B). Néanmoins, des précautions doivent être prises dans l'interprétation de ces résultats car l'échantillonnage s'est déroulé seulement sur 30 jours. La récolte de données sur une échelle de temps plus longue donnerait une estimation plus précise de la production de ressource dans cette région.

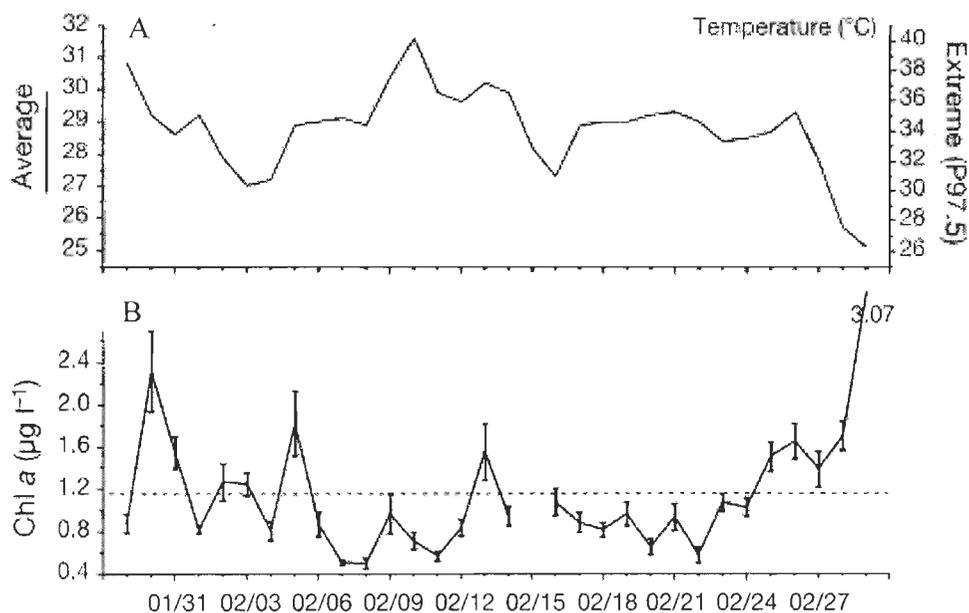


Figure 8: Variables environnementales enregistrées entre le 29 janvier et le 1<sup>er</sup> mars 2011 le long de la côte de São Sebastião. (A) Températures moyennes et extrêmes, au 97.5ème centile (P97.5) sur la surface rocheuse où les populations de balanes *C. bisinuatus* étaient établies. (B) Concentration en chlorophylle a  $\pm$  erreur type. La ligne pointillée correspond à la valeur moyenne (tiré de Kasten & Flores 2013).

*Chthamalus bisinuatus* est donc une espèce idéale pour tester l'effet du faible apport nutritif et de l'élévation de la température sur les invertébrés marins. Dans ces conditions défavorables, la plasticité de la reproduction pourrait permettre une réponse alternative adaptée, qui n'améliorerait pas nécessairement la chance de survie de la descendance, si le risque de mortalité de l'adulte est trop élevé (Kasten & Flores 2013). Kasten & Flores (2013) ont montré que l'apport en nourriture et la température sont positivement corrélés à la libération de nauplii dans les conditions naturelles, selon des mécanismes différents. En effet, il semblerait que le mécanisme impliqué dans le premier cas soit une réponse à une limitation en nourriture et dans le second cas, une réponse physiologique rapide menant à un investissement terminal vers la reproduction (Kasten & Flores 2013). Nous proposons différentes hypothèses à tester, pour analyser le partage des ressources dans les balanes adultes lors de la production de larves dans des conditions environnementales contrastées, en s'appuyant sur une série d'expérimentations en laboratoire. Dans cette étude, des populations de *C. bisinuatus* ont été élevées selon quatre traitements expérimentaux différents, en combinant des niveaux d'apport nutritionnel (élevé et faible) et de stress thermique (stressé et non stressé). Des mesures de survie et de conditions physiologiques des adultes et des larves ont permis d'identifier les réponses parentales qui pourraient être avantageuses dans un environnement tropical hostile. Nous avons utilisé la méthode des profils en acide gras pour évaluer la qualité physiologique des adultes et de larves. La condition physiologique d'un organisme dépend de son alimentation et notamment des lipides qu'il va accumuler car ces derniers sont la source énergétique majeure, particulièrement chez les larves (Whyte et al. 1989, 1991, Delaunay et al. 1993, Soudant, Marty, Moal, & Samain 1996, Nevejan et al. 2003, Bergé & Barnathan 2005, Pernet et al. 2005). Les lipides, principalement composés d'acides gras, peuvent être séparés en deux grands groupes: les lipides polaires (principalement composés de phospholipides, PL) et les lipides neutres (principalement composés de triacylglycérols, TAG). Les PLs constituent la structure primaire des membranes alors que les TAGs, regroupés sous forme de gouttelettes, constituent les réserves énergétiques de l'organisme (Waldock & Holland 1978, Gallager & Mann 1986, Delaunay et al. 1993, Lee et al. 2006). Les TAG sont

généralement positivement reliés à la survie et au succès de la métamorphose des invertébrés benthiques (Thiyagarajan et al. 2002, Pernet & Tremblay 2004, Tremblay, Olivier, et al. 2007). Ainsi, nous considérons que le contenu en acides gras de la fraction neutre des lipides est un bon indice de la qualité de larves, mais également de la quantité de réserves énergétique accumulée chez un adulte (Fraser 1989).

Le but principal du projet est de déterminer l'effet de la température et de l'apport nutritionnel chez des balanes tropicales *Chthamalus bisinuatus*. Les objectifs spécifiques sont donc de 1) caractériser et identifier les éléments nutritifs disponibles pour les balanes dans le milieu naturel afin d'établir les différences de la ressource lipidique existantes avec le mélange de microalgues ; 2) définir la dynamique d'accumulation des lipides chez la balane adulte selon la disponibilité de la nourriture pour connaître la capacité d'acclimatation et d'accumulation des adultes selon la ressource nutritive; 3) quantifier la libération de larves, leur morphométrie et leur contenu lipidique selon l'apport nutritionnel afin de définir l'effort reproductif des adultes et la qualité des larves produites et 4) déterminer l'effet de l'apport nutritionnel et du stress thermique sur la qualité des larves permettant de déduire la stratégie d'allocation maternelle de la ressource énergétique. Dans ce projet, deux hypothèses vont être testées. 1) l'apport en nourriture permet aux balanes adultes de produire des larves de qualité élevée et 2) le stress thermique génère une ponte précoce, produisant des larves de faible qualité. Ces résultats pourront apporter des réponses sur les mécanismes adaptatifs de cette espèce tropicale dominante dans les zones intertidales supérieures de cette région.



## CHAPITRE 1

### APPORT MATERNEL CHEZ LA BALANE TROPICALE : PLASTICITE DE L'ALLOCATION DE LA RESSOURCE TROPHIQUE POUR LA PRODUCTION LARVAIRE EN CONDITIONS DE CARENCE NUTRITIONNELLE ET DE STRESS ENVIRONNEMENTAL

#### RESUME EN FRANÇAIS DU PREMIER ARTICLE

Dans les régions tropicales, les espèces suspensivores ayant un cycle de vie ventho-pelagique peuvent régulièrement subir un important stress lié à la dessiccation, affectant les adultes. Ces espèces doivent également faire face à un apport nutritionnel limité, qui agit aussi bien sur les adultes que les larves pélagiques, dû aux conditions oligotrophiques fréquentes dans la colonne d'eau près des côtes. L'exposition à ces stress environnementaux peut imposer un compromis entre la performance des adultes et la reproduction. Les contraintes physiologiques sont susceptibles d'expliquer les tactiques de cycle de vie lors d'un scénario défavorable. Cependant les parents sont aussi capables d'utiliser les signaux environnementaux afin de manipuler l'allocation de la ressource aux œufs, ainsi que favoriser la performance des adultes ou la qualité de la progéniture. La balane sessile *Chthamalus bisinuatus* est l'organisme le plus abondant de la zone intertidale supérieure le long des côtes du Sud-Est du Brésil. Dans cette étude, nous avons élevé des populations de *C. bisinuatus* selon quatre traitements expérimentaux, en combinant des niveaux d'apport nutritionnel (faible et fort apport) et de stress thermique (stressé et non-stressé). Des mesures de survie et de conditions physiologiques chez les adultes et les larves ont ensuite été réalisées. Les objectifs étaient d'identifier les réponses parentales qui

pourraient être avantageuses dans un environnement intertidal tropical rude. Nos résultats ont révélé que les larves produites par des mères non-stressées exposées à des apports nutritionnels différents étaient similaires. Les adultes carencés produisent des larves dont le contenu et le profil lipidique sont semblables à ceux des larves issues des adultes non-carencés. Ces résultats suggèrent que les mères peuvent compenser ce déficit nutritionnel et allouer suffisamment de ressources à leur progéniture. Néanmoins, les populations stressées produisent moins de larves. À l'ajout du stress thermique, les larves provenant d'adultes limités en nourriture sont de qualité plus faible. Contre toutes attentes, nous avons observé que les adultes retenaient les acides gras essentiels, au détriment de la production de larves.

**Mots-clés :** *Chthamalus bisinuatus*, effet maternel, acide gras, stress thermique, apport nutritionnel

Ce premier article, intitulé « *Maternal input in a tropical barnacle: plasticity in trophic resource allocation for larval production in nutritional limitation conditions and environmental stress* » sera prochainement soumis dans la revue Marine Ecology Progress Series.

**Maternal input in a tropical barnacle: plasticity in trophic resource allocation for larval production in nutritional limitation conditions and environmental stress**

Florian Freuchet<sup>1</sup>, Réjean Tremblay<sup>1</sup>, Augusto A. V. Flores<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut des Sciences de la Mer (ISMER) - Université du Québec à Rimouski (UQAR); 310, Allée des Ursulines, CP 3300, Rimouski (Québec), Canada, G5L 3A1.

<sup>2</sup>Universidade de São Paulo. Centro de Biologia Marinha. Rodovia Manoel Hipólito do Rego, Km 131,5, CEP 11600-000, São Sebastião, SP, Brazil.

Corresponding author: [rejean\\_tremblay@uqar.ca](mailto:rejean_tremblay@uqar.ca)

**ABSTRACT**

In tropical regions, intertidal filter-feeding species with an indirect life cycle may frequently face severe desiccation stress, affecting adult benthic stages, and restricted food supply, which may impact both adults and pelagic larvae due to frequent oligotrophic conditions in the near-shore water column. Exposure to these environmental stressors may enforce a trade-off between adult performance and reproductive output. Physiological constraints can fully explain life-history tactics in an unfavorable scenario. However parents may also use environmental cues to manipulate resource allocation to eggs, either favoring adult performance or progeny quality. The acorn barnacle *Chthamalus bisinuatus* is the most abundant organism in the upper midlittoral zone along rocky coastlines in South-eastern Brazil. In this study, we reared *C. bisinuatus* populations in four different experimental groups, by combining levels of food supply (high vs. low) and thermal stress (stressed vs. non-stressed), and measured survival and physiological conditions for both adults and larvae. The objectives were to identify parental responses that might be advantageous in the harsh tropical intertidal environment. Our results revealed that attributes of larvae produced by unstressed mothers exposed to different food regimes were similar. Food-limited adults produced larvae with similar lipid content and fatty acids profiles than ones from food-unlimited adults suggesting that mothers can compensate this deficit and allocate sufficient resources to their offspring. Stressed populations, however, produced fewer larvae. When food limitation was added to thermal stress, released larvae were also of lower quality. Surprisingly, we observed that adults retained essential fatty acids at the expense of producing larvae.

**Key words:** *Chthamalus bisinuatus*, maternal effects, fatty acids, thermal stress, food supply

## INTRODUCTION

More than 70% of sessile marine invertebrates produce planktonic larvae (Thorson 1949). Several processes, reviewed by Morgan (1995), are responsible for exceedingly high mortality rates in the plankton (Rumrill 1990), and starvation stands out as one of the most important causes, especially for crustacean larvae (Olson & Olson 1989). Therefore, paternal resource allocation to offspring, although insufficient to ensure development to competent larval stages, may be important to prevent starvation during temporary poor trophic conditions. In filter-feeding species, adults and larvae may share a common source of nutrients, and parental responses to food supply could thus enhance their fitness by controlling the amount of resources invested in reproduction. For most invertebrate groups it is difficult to advance ways in which parental responses could maximize their fitness, because life-history tables for benthic stages and information on larval mortality rates are not available. However, understanding how adult populations regulate reproductive output when facing critical environmental conditions may help understanding ways in which selection has shaped adaptive life-history traits in intertidal habitats.

During reproduction, females of invertebrate species inhabiting relatively unstable habitats are capable to rapidly transfer energetic resources to developing oocytes (Eckelbarger 1994). During the ontogenesis, females can influence on the energetic resources they allocate to their brood, by the transfer of lipids for example (Yamamoto et al. 1999). However, maternal resources can be allocated in different ways during egg production, as reviewed by Marshall & Uller (2007). Besides compensatory responses to physiological constraints, mothers can also use environmental cues to manipulate resource allocation to individual offspring, thus adding another component of phenotypic variation in their offspring, and providing a mechanism for adaptive transgenerational phenotypic plasticity (Mousseau & Fox 1998). Under reliable signaling of habitat quality, mothers may either enhance ('anticipatory mother effects', AME) or reduce ('selfish maternal effects', SME) offspring fitness. Under unpredictable environmental conditions, selection may favor

mothers which produce offspring with a range of phenotypes to maximize the surviving probability of their broods ('bet-hedging maternal effect', BME). In some instances, environmental change affects maternal phenotype, which is transmitted to their offspring ('transmissive maternal effect', TME). This is the case of pathogen transmission. AME, SME and BME increase maternal fitness but only AME enhance offspring fitness (Marshall & Uller 2007). Mothers may also buffer environmental variation, and ensure baseline larval quality, by either reducing their own growth, their metabolic activity or by reducing fecundity (physiological side-effects). Under extreme unfavorable conditions, posing high mortality risk for adults, energy resources can be rapidly directed to reproduction. This is interpreted as a terminal investment in response to the death threat (Cotter et al. 2010). Risk cues, such as an activation of the immune system (signaling infections, Cotter et al. 2010), injuries (Javoš & Tammaru 2004) or weather hazardous conditions (Roitberg et al. 1993) can trigger a terminal reproductive investment, thus increasing fitness under conditions of low life expectancy. As far as we are aware, there is no information on how mothers manipulate offspring quality when facing a clear mortality risk, and how such a response depends on available resources. Increasing offspring fitness will support an AME, while decreasing offspring fitness will indicate a SME in which investing in their own performance (e.g. growth, survival) will be preferred.

In intertidal coastlines of tropical regions, exceedingly high temperatures may drive large mortality events of sessile benthic organisms by desiccation (Thiyagarajan et al. 2000). Organisms on tropical shore might experience temperatures higher than 50°C (Williams 1994). To reduce this stress, species present some adaptations like hiding in shaded refuge, sealing their shell or oriented it in a way to minimize exposure (Garrity 1984). Body temperature of benthic organism often exceeds the rock temperature (Lewis 1963, Achituv et al. 1980, Williams & Morrill 1995, Chan et al. 2006). For example the body temperature of the barnacle *Tetraclita japonica* can be 15% higher than the rock (Chan et al. 2006). The mortality following a long period of sun exposition is enhanced when the organism is located higher on the shore and/or on a vertical plan (Williams & Morrill 1995). Also, oligotrophic conditions in coastal tropical oceans are common

(Marañón et al. 2000, Palmer & Totterdell 2001) and food supply for filter-feeding benthic stages can be limited (Kasten & Flores 2013). The acorn barnacle *Chthamalus bisinuatus* (Pilsbry) is the dominant organism in the upper midlittoral zone along rocky coastlines in South-eastern Brazil, with cover densities ranging from 50 to more than 80% (Christofoletti et al. 2010). Previous results on this species showed that both food supply and temperature were positively correlated with naupliar release in natural conditions (Kasten & Flores 2013). Based on the time required for a reproductive response, they hypothesized that food supply could be limiting reproductive output in the São Sebastião Channel (SSC), and that release events could also be triggered by sub-lethal temperatures, consistent to a terminal reproductive investment. However, proper testing of causal mechanisms is still pending.

In this manipulative experiment, the main objective was to determine how adults of the barnacle *C. bisinuatus* partition resources when producing their larvae under contrasting environmental conditions. In a factorial experiment, we manipulated food supply and thermal stress in adult populations, and measured physiological conditions and survival of both adults and the larvae they produced, in order to understand reproductive strategies under critical stressing conditions that may frequently impact barnacle populations in the field. Fatty acids (FA) accumulation and their profiles have been used as physiological indicator of nauplii as lipids are the primary source of energetic reserves (Lucas et al. 1979, Thiagarajan et al. 2003). Results allowed us to interpret responses of the parental population at the light of three competing scenarios. In the first one, adult barnacles cannot manipulate larval quality, and changes of both offspring size and adult physiological state are a result of physiological constraints (PC). In the second, parents can manipulate larval quality in addition to PC, and anticipate their fitness by allocating additional per-capita resources to offspring when environmental conditions are unfavorable for adults or larvae. Finally, a third possibility is that parents manipulate larval quality under critical stressful conditions, and independently of any PC, they decrease per capita resource allocation and ensure their own performance.

## MATERIALS AND METHODS

### Sampling of adult populations and natural seston

The laboratory experiment was conducted from March 6<sup>th</sup> to April 26<sup>th</sup> 2012 at the Centre for Marine Biology (CEBIMar) of the University of São Paulo (USP), in São Sebastião, Brazil. Rock chips were collected at Calhetas (23°45'S; 45°24'W) on March 6<sup>th</sup> (T<sub>1</sub>), 10 km apart from the CEBIMar, where the barnacle cover is denser. In CEBIMar, 6 X 2 L of seawater pumped from 0.5 to 1 m from the surface and pre-filtered through a square mesh sieve (80 µm) have been filtered on 25 mm GF/F filter (Whatman, Maidstone, UK). Three filters have been used for dry mass determination (70°C, 24h) and three for fatty acids characterization of natural seston. This characterization of natural seston will be used to estimate the level of differentiation with the experimental diet.

### Experimental setup

Experimental barnacle populations were submitted to an artificial tidal regime, using a 200 l tank of 3 µm filtered seawater. Pumps were programmed to operate 1 h each 12 h, simulating high-tide emersion periods. When pumps were off, aquaria slowly drained through a hose of 0.5 cm diameter to collect seawater of each aquarium. Twelve aquaria (16 l) were used to test the effects of food supply and thermal stress in a factorial experimental design, at constant temperature (25°C) and on natural photoperiod and seawater salinity ( $\approx$  34 ppm). A mix of 3 microalgal species (1:1:1; *Nannochloropsis occulata*, *Isochrysis galbana* and *Pavlova lutheri*) was used to feed adult barnacles at each submersion period with the use of commercial live microalgae concentrate ( $3 \times 10^9$  cells.ml<sup>-1</sup>) obtained through ultrafiltration processes (Nutrocean inc, Rimouski, Canada). This is a standard quality hatchery food, prepared to avoid deficiency of essential fatty acids (Seychelles et al. 2009). We estimated overall barnacle biomass (dry mass) from live

barnacle cover ( $\text{cm}^2$ ) of experimental populations to establish two different diet regimes throughout the experiment. Six aquaria were randomly assigned to a low food supply treatment (LF,  $2.8 \times 10^7 \text{ cells.l}^{-1}.\text{d}^{-1}.\text{g}^{-1}$ ), and the other 6 to a high food supply treatment (HF,  $15.2 \times 10^7 \text{ cells.l}^{-1}.\text{d}^{-1}.\text{g}^{-1}$ ). These two diets corresponded, respectively, to daily rations of 0.6 and 3.0 % of the total adult barnacle biomass. This lower level would meet minimum requirements for reproduction, as observed in bivalve hatcheries (Helm et al. 2004). Barnacles were submitted to an acclimation period of 22 d ( $T_0$ ) under these environmental and feeding conditions before the application of thermal stress events 1 ( $T_1$ , at day 25 and 26), 2 ( $T_2$ , at day 41 and 42) and 3 ( $T_3$ , at day 56 and 57) to each aquaria. Experimental stress consisted in transferring rock chips from aquaria to BOD (BIO stability humidity incubators) chambers (Fanem, 347 CDG), set at  $45^\circ\text{C}$  and  $25^\circ\text{C}$  for stressed and control barnacles (3 aquaria within each food supply condition), respectively. At each thermal stress events, barnacles were transferred to BOD chambers in two consecutive days for a period of 12h at  $T_1$  and 6h at  $T_2$  and  $T_3$ . As barnacles were not feeding shortly after 12h thermal stress, we decreased the stress periods to 6 h. We aimed to expose stressed populations to extreme conditions, which might take place during summer low-tide periods with no splash between high-tide maxima.

### **Response variables**

*Overall trends* - Overall adult mortality and growth was estimated by analyzing images of barnacle populations, within each aquarium, at different sampling dates. All rock chips were photographed with a digital camera before they were placed in aquaria to allow measurements of initial barnacle cover and individual size. Photographs were taken again at the midterm ( $T_m$ , day 41, March, 27<sup>th</sup>) and at the end of the experiment ( $T_e$ , day 62, April, 17<sup>th</sup>). In order to estimate mortality, we first quantified adult stocks at the start of the experiment by dividing the cover area of live barnacles by the average area of a single individual, obtained from a random sample of 25 barnacles. The number of new empty

barnacle cases was then recorded for each aquarium, both at  $T_m$  and  $T_e$ , and mortality rate calculated as deaths per 100 individuals per day. Overall growth was measured as increments of the opercular diameter (OD) of a random sample of 10 barnacles per aquarium, which had free adjacent bare rock space allowing horizontal growth. All these image analyses were undertaken using the image J software. Every 4 d, the water from each aquarium was filtered through a 100  $\mu\text{m}$  mesh after the emersion period, and retained larvae were counted under a stereomicroscope (M3B, Wild Heerbrugg). Reproductive effort was estimated from averages of daily larval counts, corrected for barnacle cover area in each aquarium.

*Short-term response* - In order to more adequately interpret responses of barnacles to different food supply, we first characterize lipid characteristics of the experimental diet, at both tested concentrations. Four water samples (1 l), from each aquaria of each treatment, were pumped through 25 mm Whatman GF/F filters (pre-combusted at 450°C for 2 h) to determine dry mass and fatty acid profiles. Dry mass and lipid analyses were also characterized in each aquarium for a sample of adults ( $n = 5$ ), at  $T_{-1}$  and  $T_0$ , and 2-3 days after  $T_1$ ,  $T_2$  and  $T_3$  for each treatment. Dry mass and lipid characteristics of nauplii ( $n = 50$ ) were analyzed at  $T_0$ , and after the stress event  $T_1$ ,  $T_2$  and  $T_3$  in each aquaria. Subsamples of nauplii were collected in parallel for morphometric analyses ( $n = 10$ ) and survival trials ( $n = 10$ ). Survival trials were carried out at  $T_1$ ,  $T_2$  and  $T_3$ , on all of the 12 aquaria.

*Fatty acids analyses* - Lipids were extracted in dichloromethane-methanol using a modified Folch procedure (Folch et al. 1957) as described in Parrish (1987) and separated into neutral (including triglycerides, free fatty acids, and sterols) and polar (including mainly phospholipids) fractions by silica gel (30  $\times$  5 mm i.d., packed with Kieselgel 60, 70–230 mesh; Merck, Darmstadt, Germany) hydrated with 6% water and eluted with 10 mL of dichloromethane:methanol (98:2 v/v) for neutral lipids followed by 10 mL of methanol for polar lipids (Marty et al. 1992). The neutral and polar fractions were further eluted on an activated silica gel with 3 ml of hexane and diethyl ether to eliminate the free

sterols. For the characterization of food (microalgae mix) and natural seston lipid profiles, fatty acids (FA) were extracted through direct transesterification (Lepage & Roy 1984). All fatty acid methyl esters (FAMES) were prepared as described in Lepage & Roy (1984) and analyzed in MSMS scan mode (ionic range: 60–650 m/z) on a Polaris Q ion trap coupled to a Trace GC (Thermo Finnigan, Mississauga, ON, CA) equipped with a Valcobond VB-5 capillary column (VICI Valco Instruments Co. Inc., Broakville, ON, CA); data were treated using Xcalibur v.1.3 software (Thermo Scientific, Mississauga, ON, CA). FAMES were identified by comparing retention times with known standards (Supelco 37 Component FAME Mix and menhaden oil; Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA. Methyl esters of fatty acids were prepared using toluene. Every sample was purified using a solution of hexane-acetate ( $C_6H_{14}/CH_3COO^-$ ) (1:1), and analyzed by gas chromatography coupled with a mass spectrometer (GC-MS) (Toupoint et al. 2012). The sum of all identified fatty acids corresponded to the total lipids content in larvae and adults.

*Morphometric analyses* – Carapace length (CL) was measured from the front of the carapace to the end of the caudal process. All analyses were carried out under a stereomicroscope (BX41, Olympus) provided with a digital camera (Evolution VF, MediaCybernetics) and the use of the software Image-Pro Express (version 5.1.0.12, MediaCybernetics).

*Survival trials* – Nauplii were randomly collected and maintained food-deprived in 1 ml wells, with a diameter of 10.2 mm (Costar® Cell Culture Clusters plates with 48 wells each), filled with seawater (salinity around 34). Well plates containing larvae from different treatments were randomly placed over laboratory bench space at temperature maintained at 25°C.

## Statistical analyses

Adult mortality, adult growth, reproductive effort, larval length, total concentration of neutral fatty acids (FA) in adult and nauplii after the different TS, days to death of captive nauplii, total neutral FA in adults after T0 and T-1 and total neutral FA in nauplii after T0 were studied with different analyses of variance (ANOVA) models. Lipids profiles of natural seston, mix of microalgae, adults and the different ratio of EFA were compared using the same permutational multivariate analyses of variance (PERMANOVA) design.

Three-way ANOVA were used to compare adult mortality according to 'date' (day 0 to 41 and day 42 to 62,  $n = 3$ ), 'food supply' (HF and LF,  $n = 3$ ), and 'thermal stress' (stress and control,  $n=3$ ). Reproductive effort was compared using a two-ways ANOVA, with food supply and thermal stress as factors as above. Because measurements for single individuals ( $n = 10$ ), within each replicate tank, were obtained to examine overall adult growth, a third factor was added to the model to test the effect of aquaria, thus nested in the interaction of factors 'food supply' and 'thermal stress'. Larval length and nauplii survival were also compared using a three-way ANOVA model, with 'time' ( $T_0$ ,  $T_1$ ,  $T_2$  and  $T_3$ ,  $n = 7$ ), 'food supply' (HF and LF,  $n = 7$ ), and 'thermal stress' (stress and control,  $n = 7$ ) as factors. Total concentration of neutral fatty acids in adult barnacles and nauplii, and days to death of captive nauplii were also analyzed with the same 3-way ANOVA approach, but using a samples size of 3 and 7 for total concentration of neutral FA, and days to death, respectively. A one way ANOVA mode had been used to test the total neutral fatty acids amount between T0 and T-1 in adults with 'food supply' (HF,  $n = 6$ , LF,  $n = 6$  and T-1 = 12) as factor. The comparison of total neutral fatty acids in nauplii at T0 were also tested with a one way ANOVA mode with 'food supply' (HF and LF,  $n = 6$ ) as factor. Assumptions of homoscedasticity and normality were verified with the Cochran's and Shapiro-Wilk's procedures, respectively, and data were log10 or square-root transformed when necessary. On each ANOVA, *a posteriori* test comparisons were made using SNK's test. Those statistical analyses were run in STATISTICA (v. 8.0)

Multivariate analysis of fatty acids profiles, including *a posteriori* pair-wise comparisons, were done using the same statistical design with a distance-based PERMANOVA (with 9999 permutations; Anderson 2001, Anderson et al. 2008) followed by the SIMPER procedure, using the Bray-Curtis similarity matrix, to identify the lipid classes that contributed the most for these differences. Assumptions of homoscedasticity were verified with a PERMDISP test, and data were transformed (arcsine square root) when necessary. When the number of unique permutations were high (100 and more) the permutation p-value was preferred to Monte Carlo, as they provide a more accurate test (Anderson 2001, Anderson & Robinson 2003). Finally, ratio of adults polar EFA on food EFA and ratio of nauplii neutral FA on adults neutral FA were analyzed with a two-way PERMANOVA, with 'time' (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> and T<sub>3</sub>) and 'food supply' (HF, LF) as factors. Those statistical analyses were undertaken in PRIMER 6 (v. 6.1.12) and PERMANOVA+ (v. 1.0.2).

## RESULTS

### Effect of laboratory acclimation

We observed important differences between the fatty acid profile of natural seston, collected at T<sub>1</sub>, and profile of the microalgae mix, used as food source in the experiments (pseudo-F = 379.16; p (perm) = 0.007). SIMPER analyses showed that this dissimilarity was mostly attributed to 18:0, 16:1n7, 20:5n3 and 14:0 (30.4%, 19.6%, 12.9% and 10.3% contribution of the dissimilarity, respectively; Table 1).

Table 1: Fatty acid composition for neutral and polar lipids in the mix of algae and in natural seston (mean + SE). Values are expressed in percentage of the total. Every fatty acid representing fewer than 2% of the total in all the different categories (algae or natural seston) has been removed. SFA = saturated fatty acid; MUFA = monounsaturated fatty acid; PUFA = polyunsaturated fatty acid; EFA = essential fatty acid; AA = arachidonic acid (20:4n6); EPA = eicosapentaenoic acid (20:5n3); DHA = docosahexaenoic acid (22:6n3). Squared data correspond to FA that contribute most to the dissimilarity between groups according to the SIMPER analysis.

Fraction Time	Mix of algae	Seston
	Total	Total T-1
<i>Fatty acid</i>		
14:0	11.5 ± 0.3	1.1 ± 0.1
16:0	29.6 ± 0.6	29.3 ± 0.5
18:0	1.1 ± 0.1	31.8 ± 2.9
20:0	0.4 ± 0.0	1.1 ± 0.1
22:0	0.4 ± 0.0	0.9 ± 0.0
ΣSFA	43.0 ± 0.8	68.1 ± 3.5
16:1w7	21.1 ± 0.2	1.3 ± 0.1
16:1w5	0.0 ± 0.0	5.9 ± 1.2
17:1w7	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.0
18:1w9	3.4 ± 0.0	8.6 ± 0.6
18:1w7	1.9 ± 0.1	3.8 ± 0.5
20:1w11	0.0 ± 0.0	0.1 ± 0.1
20:1w9	0.2 ± 0.0	0.6 ± 0.2
ΣMUFA	26.6 ± 0.3	21.8 ± 2.4
18:2w6	3.4 ± 0.1	2.2 ± 0.2
18:3w3	0.4 ± 0.0	1.3 ± 0.2
20:4w6 (AA)	3.1 ± 0.0	0.8 ± 0.1
20:5w3 (EPA)	15.9 ± 0.3	2.8 ± 0.5
22:6w3 (DHA)	7.7 ± 0.3	1.7 ± 0.3
ΣPUFA	30.5 ± 0.6	10.2 ± 1.3
ΣEFA	26.6 ± 0.6	5.3 ± 0.8

A comparison of total neutral fatty acids content between adults collected directly in the field (T<sub>1</sub>) and after the laboratory acclimation (T<sub>0</sub>) with microalgae mix (for HF and LF) showed no significant differences ( $F_{2,20} = 1.789$ ;  $p = 0.193$ ). The comparison of FA profiles of adults from those three treatments (T-1, HF and LF) did not show significant differences neither for polar (pseudo- $F = 1.54$ ,  $p$  (perm) = 0.138) nor for neutral lipids (pseudo- $F = 0.95$ ;  $p$  (perm) = 0.514 (Table 2)). No significant differences appeared in the sum of neutral fatty acids in nauplii between HF and LF ( $F_{2,20} = 0.121$ ;  $p = 0.738$ ) too.

Table 2: Fatty acid composition for neutral and polar lipids in adults at T<sub>-1</sub>, T<sub>0</sub> (average of the 2 food treatment combined) and TS (average of the 3 thermal stress period all factor combined); nauplii at T<sub>0</sub> (average of the 2 food treatment combined), TS (average of the 3 thermal stress period all factor combined) and on the field; (mean + SE). Values are expressed in percentage of the total. Every fatty acid representing fewer than 2% of the total in all the different categories (adults et nauplii) has been removed. SFA = saturated fatty acid; MUFA = monounsaturated fatty acid; PUFA = polyunsaturated fatty acid; EFA = essential fatty acid; AA = arachidonic acid (20:4n6); EPA = eicosapentaenoic acid (20:5n3); DHA = docosahexaenoic acid (22:6n3). Squared data correspond to FA that contribute most to the dissimilarity between groups according to the SIMPER analysis.

Fatty acid	Adults T-1		Adults T0		Adults TS		Nauplii T0		Nauplii TS	
	Neutral	Polar	Neutral	Polar	Neutral	Polar	Neutral	Polar	Neutral	Polar
14:0	2.2 ± 0.5	2.1 ± 0.5	2.4 ± 0.33	0.3 ± 0.1	2.1 ± 0.3	0.1 ± 0.0	0.5 ± 0.2	0.4 ± 0.2	0.3 ± 0.12	0.1 ± 0.1
16:0	21.0 ± 1.3	20.9 ± 1.2	24.4 ± 1.69	18.4 ± 1.9	22.0 ± 7.1	13.4 ± 0.9	13.9 ± 1.8	14.3 ± 1.6	24.9 ± 1.37	16.6 ± 1.3
18:0	11.2 ± 0.9	11.4 ± 0.9	11.4 ± 1.32	18.0 ± 1.7	11.0 ± 5.9	15.1 ± 0.9	23.9 ± 2.8	45.4 ± 4.5	36.2 ± 1.93	33.7 ± 2.1
20:0	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0	1.3 ± 0.18	1.0 ± 0.1	1.2 ± 1.7	1.0 ± 0.1	3.0 ± 0.5	3.6 ± 0.5	1.7 ± 0.31	2.4 ± 0.3
22:0	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.2 ± 0.21	1.2 ± 0.2	1.3 ± 2.1	2.0 ± 0.3	4.1 ± 1.2	2.2 ± 0.5	1.8 ± 0.47	3.6 ± 0.5
ΣSFA	40.1 ± 1.3	40.1 ± 1.2	46.0 ± 3.46	42.7 ± 3.9	42.0 ± 6.8	35.2 ± 2.0	50.0 ± 3.0	73.3 ± 3.0	68.7 ± 2.28	62.0 ± 3.2
16:1w7	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	5.7 ± 0.24	2.2 ± 0.1	4.5 ± 0.9	2.1 ± 0.1	3.2 ± 0.8	2.0 ± 0.3	1.5 ± 0.21	1.8 ± 0.2
16:1w5	5.4 ± 0.7	5.3 ± 0.7	0.4 ± 0.09	0.1 ± 0.0	0.2 ± 1.2	0.1 ± 0.0	1.8 ± 0.5	1.1 ± 0.2	1.5 ± 0.38	1.1 ± 0.1
17:1w7	0.6 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.3 ± 0.1	1.1 ± 0.2	0.2 ± 1.2	1.5 ± 0.1	4.2 ± 0.8	2.0 ± 0.5	1.3 ± 0.22	1.7 ± 0.1
18:1w9	7.6 ± 0.5	7.6 ± 0.5	2.5 ± 0.13	2.6 ± 0.1	2.2 ± 2.1	2.2 ± 0.1	3.8 ± 0.9	2.8 ± 0.3	1.0 ± 0.13	2.4 ± 0.7
18:1w7	2.7 ± 0.1	2.7 ± 0.1	5.9 ± 0.35	7.4 ± 0.3	5.6 ± 1.5	7.1 ± 0.3	13.2 ± 1.9	6.8 ± 1.0	9.2 ± 0.85	6.0 ± 0.9
20:1w11	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.1	0.7 ± 0.07	0.7 ± 0.1	0.5 ± 0.7	0.7 ± 0.1	1.3 ± 0.7	0.8 ± 0.5	0.1 ± 0.03	1.5 ± 0.9
20:1w9	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.2	0.7 ± 0.18	0.3 ± 0.1	0.3 ± 0.9	0.2 ± 0.1	1.6 ± 0.7	1.1 ± 0.2	0.0 ± 0.02	1.5 ± 1.4
ΣMUFA	18.8 ± 0.5	18.9 ± 0.5	18.7 ± 1.6	18.0 ± 2.6	15.2 ± 6.1	15.2 ± 0.6	17.5 ± 2.8	18.2 ± 4.1	14.9 ± 1.47	16.4 ± 2.7
18:2w6	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.0	1.4 ± 0.19	1.1 ± 0.1	1.3 ± 0.8	1.2 ± 0.1	3.9 ± 0.5	1.6 ± 0.5	3.4 ± 0.27	4.6 ± 0.7
18:3w3	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.2 ± 0.25	0.7 ± 0.2	2.1 ± 1.0	1.3 ± 0.3	1.4 ± 0.6	0.6 ± 0.3	3.6 ± 1.16	2.0 ± 0.4
20:4w6 (AA)	2.1 ± 0.2	2.1 ± 0.2	1.7 ± 0.13	2.4 ± 0.2	1.9 ± 0.4	2.9 ± 0.2	1.0 ± 0.4	0.0 ± 0.0	0.6 ± 0.1	1.6 ± 0.2
20:5w3 (EPA)	12.8 ± 0.7	12.9 ± 0.6	10.4 ± 1.04	14.0 ± 0.9	11.2 ± 0.4	15.6 ± 0.7	2.8 ± 0.5	0.9 ± 0.3	1.7 ± 0.18	3.6 ± 0.3
22:6w3 (DHA)	22.3 ± 1.0	22.2 ± 0.9	17.9 ± 2.8	20.1 ± 3.4	24.0 ± 0.6	27.5 ± 1.2	4.1 ± 0.8	2.2 ± 0.4	3.6 ± 0.65	5.7 ± 0.7
ΣPUFA	41.1 ± 1.4	41.0 ± 1.4	35.3 ± 3.57	39.3 ± 4.0	42.9 ± 3.1	49.6 ± 2.0	13.5 ± 1.8	14.7 ± 2.8	16.4 ± 2.05	21.6 ± 1.9
ΣEFA	37.2 ± 1.5	37.2 ± 1.5	30.0 ± 3.73	36.5 ± 3.9	37.1 ± 1.1	46.1 ± 2.0	5.7 ± 0.8	8.0 ± 1.6	5.9 ± 0.77	10.9 ± 1.1

## Impact on mortality and larval productivity

Thermal stress had an effect on adult mortality and larval production. We observed that thermal treatment and day interact on the effect of mortality ( $F_{1,16} = 6.08$ ;  $p = 0.025$ ). No significant difference was observed for the 41 first days of the experiment (Fig. 8A). However, a significant difference was observed from the day 42 to 62 with adult mortality of  $1 \pm 0.2 \text{ \% d}^{-1}$  for the stress treatment (Fig. 8A). As adult mortality, the reproductive effort (larval production) was significantly different for the 'thermal stress' treatment ( $F_{1,8} = 9.69$ ;  $p = 0.014$ ) with 46.7% less larval productivity in stressed barnacles, independently of food supply (Fig. 8B). No significant difference appeared in adult growth.

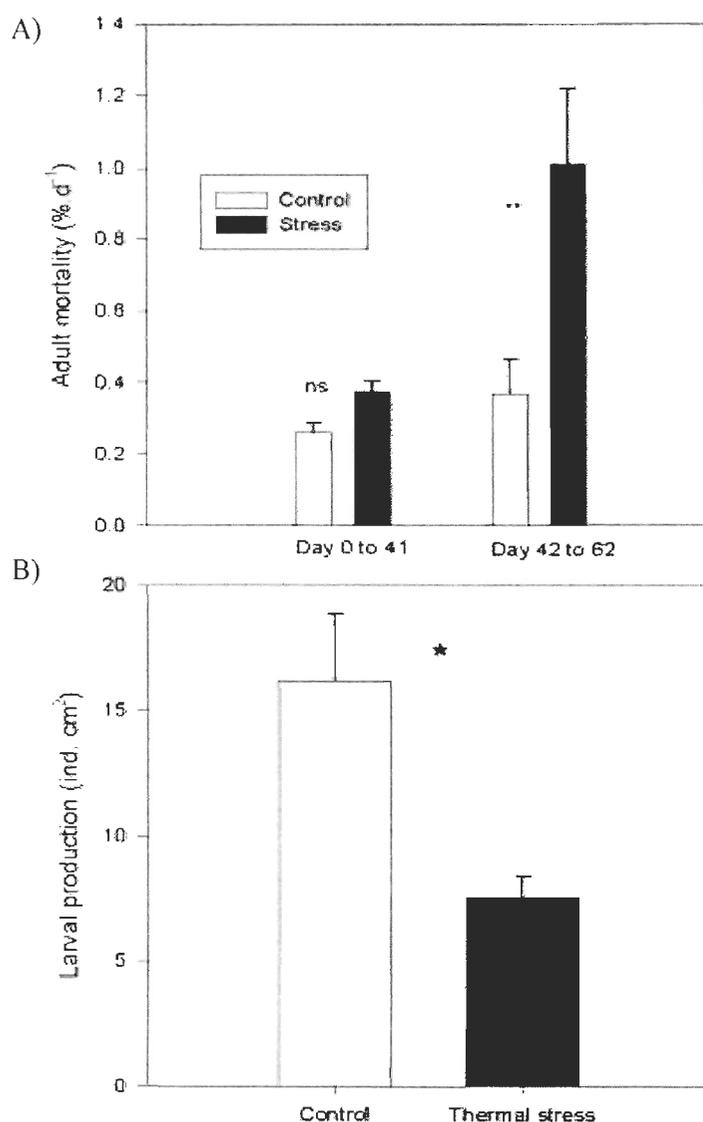


Figure 9: Adult mortality in percentage per day (mean + SE) from day 0 to day 41 and from day 42 to 62 depending on thermal treatment (A). Reproductive effort or larval production in individuals per square centimeter cover of barnacles alive depending on thermal treatment (B). White box is for control treatment and black is for stress treatment. \*  $p < 0.05$ ; \*\*  $p < 0.001$ ; ns = not significant.

There was a significant interaction of food supply and thermal stress on the length of the nauplii produced ( $F_{1,96} = 4.23$ ;  $p = 0.042$ ). For unstressed populations, there was no significant difference between the high food (HF) and low food (LF) treatment. However, within the thermal stress treatment, nauplii produced by LF parents were 7% smaller ( $18 \mu\text{m}$  smaller) than those produced with HF treatment (Fig. 9A). Time had also a significant effect on larval length, with nauplii at T<sub>1</sub> being smaller ( $22.6 \pm 6.9 \mu\text{m}$ ; Fig. 9B).

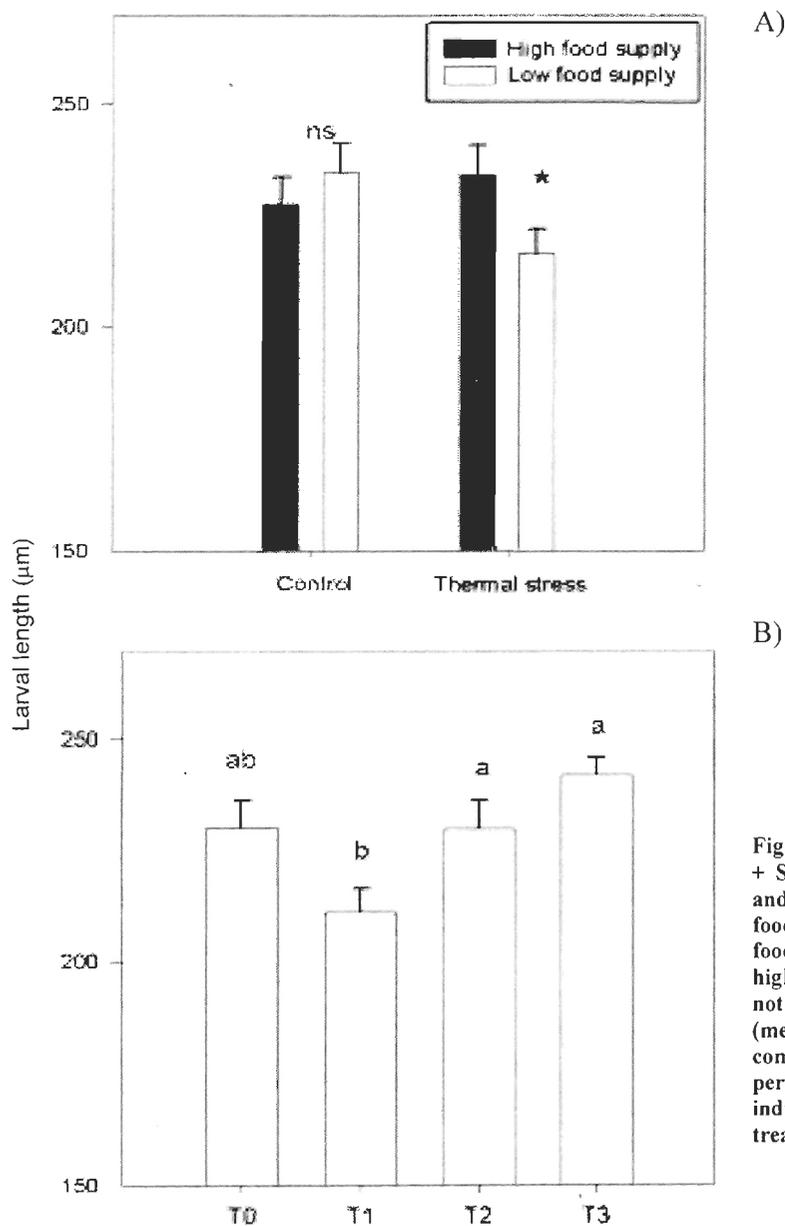
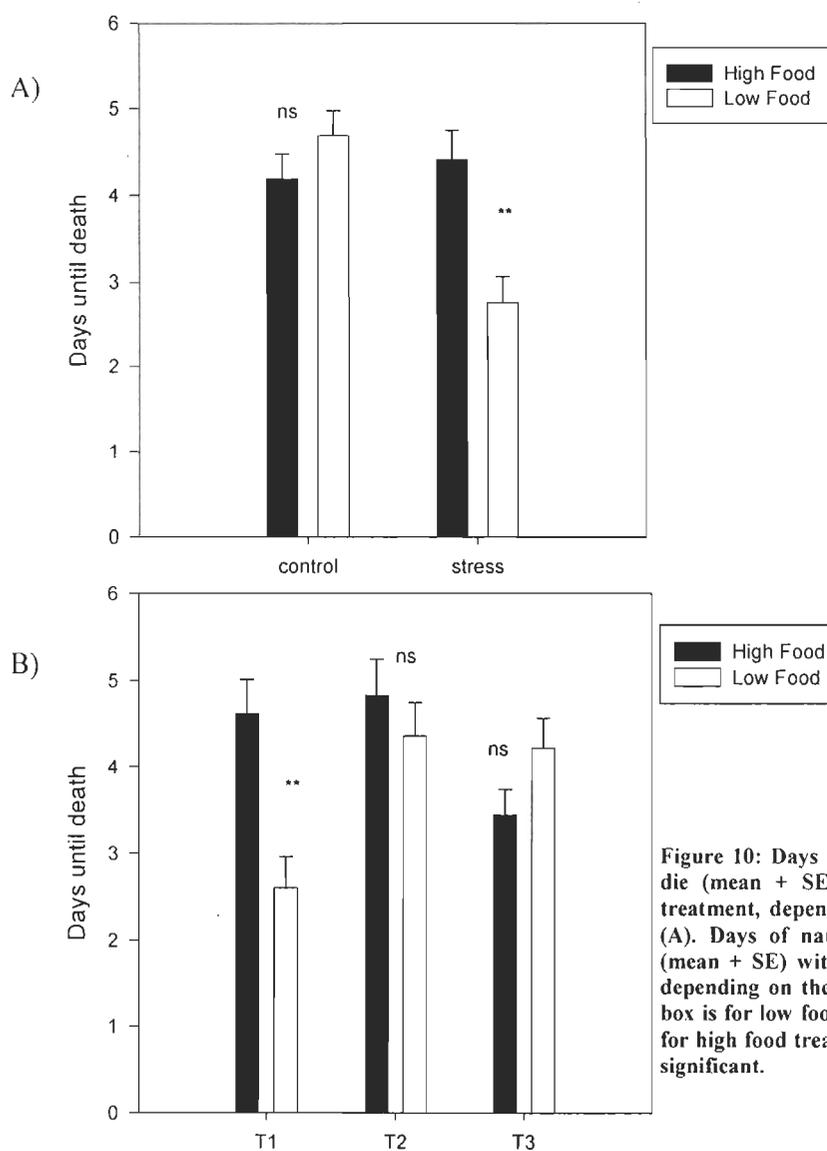


Figure 10: (A) Length of nauplii (mean + SE) in micrometers, within control and stress treatment depending on the food treatment. White box is for low food treatment and black box is for high food treatment. \*  $p < 0.05$ ; ns = not significant. (B) Length of nauplii (mean + SE) in micrometers, all combined treatment, depending on the period of time. Different letters indicate significant differences in time treatment.

A significant interaction between food supply and thermal stress was detected for larval survival ( $F_{1,24} = 10.61$ ;  $p = 0.003$ ). Populations not exposed to thermal stress produced larvae that survived for similar periods regardless of food supply. However, stressed populations, which were also fed with the poorer diet, released nauplii which died 1.65 days earlier (Fig. 10A). A second interaction between time and food supply is also observed for larval survival ( $F_{2,24} = 6$ ;  $p = 0.008$ ). The most important difference was observed at  $T_1$ , when nauplii died 2 days earlier in the LF treatment compared to the HF treatment (Fig. 10B).



**Figure 10:** Days of nauplii survival until they die (mean + SE) within control and stress treatment, depending on the food availability (A). Days of nauplii survival until they die (mean + SE) within different period of time, depending on the food availability (B). White box is for low food treatment and black box is for high food treatment. \*\*  $p < 0.001$ ; ns = not significant.

### Impact on fatty acids profiles

The total FA concentration of the neutral fraction has been used as an indicator of the lipid energetic reserves accumulation in both adults and nauplii. In adults, we observed a significant effect of time ( $F_{2,23} = 4.68$ ;  $p = 0.02$ ), with values 40% lower in  $T_3$  compared to  $T_1$  (Fig. 10). Total mass of neutral fatty acids in nauplii showed a triple interaction (time X food supply X thermal stress;  $F_{2,23} = 3.65$ ;  $p = 0.042$ ), but without conclusive trends. No interpretation had been visible.

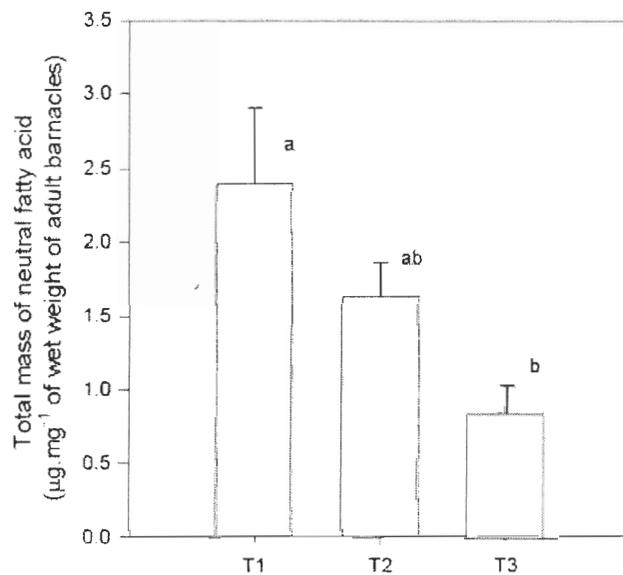


Figure 12: Total mass of neutral fatty acid in microgram per milligram of adult barnacles' wet weight (mean + SE), depending on the period of time. Different letters indicate significant differences in time treatment.

To obtain an indicator of the nutritional quality of experimental diets, we used the ratio of the polar fraction of fatty acids (structural phospholipids of cell membranes) in adults to the fatty acids of the food (microalgae mix). This ratio indicates selective incorporation or elimination in the cell membrane (polar lipid) of adults of a given dietary fatty acid. We assume that a similar fatty acid level in the cell membranes of adults and in the food (relative proportion  $\leq 1$ ) confirms that the nutritional requirements for this fatty acid were largely satisfied. For all treatment combinations, AA and EPA ratios were

generally close to 1, signifying that the food fulfilled the nutritive necessities for those EFA. For DHA, which higher ratios were observed in the LF treatment (up to 4.7; Fig. 12), ratios were mostly higher than 2, suggesting an important selective incorporation. A triple interaction among time, food and thermal stress was detected (PERMANOVA, pseudo-F = 5.06;  $p = 0.0031$ ). An important decrease of the three EFA ratios was observed at T2 in the control for the HF treatment compared to the LF treatment, especially for DHA (ratio of 1.3 and 4.7, respectively). Despite this diminution, those ratios stay close to 1 for the LF treatment.

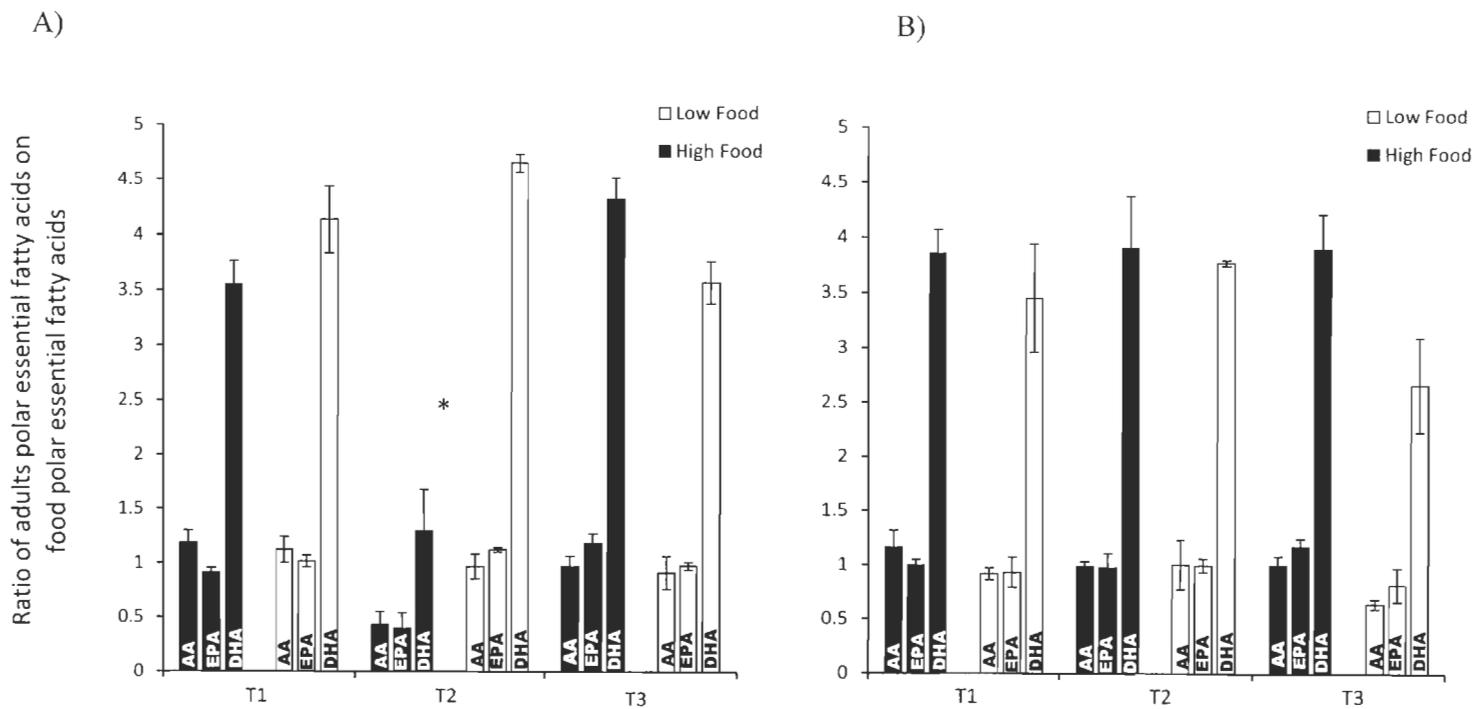


Figure 13: Ratio of adults' polar essential fatty acids assemblage on food essential fatty acids assemblage (mean + SE), within different period of time, depending on food availability, for control (A) and stress (B) treatment. AA = arachidonic acid (20:4n6); EPA = eicosapentaenoic acid (20:5n3); DHA = docosahexaenoic acid (22:6n3). White box is for low food treatment and black box is for high food treatment. \*  $p < 0.05$ ; ns = not significant.

In order to observe differential allocation of particular EFA fractions from adult barnacles to their larvae, we compared the ratio of neutral FA in larvae and adults (Fig. 13). The PERMANOVA analysis showed a significant difference of these ratios over time (pseudo-F = 3.63;  $p$  (perm) = 0.004). A pair-wise test indicate a difference between  $T_1$  and  $T_2$  ( $t = 1.96$ ;  $p = 0.0114$ ) and between  $T_1$  and  $T_3$  ( $t = 2.46$ ;  $p = 0.0029$ ). No significant difference was detected between  $T_2$  and  $T_3$  ( $t = 0.84$ ;  $p = 0.5709$ ). For each EFA in neutral fraction there is a lower transfer at  $T_1$  than at  $T_2$  and  $T_3$  (Fig. 6). The DHA and the EPA were the EFA fractions less transferred to nauplii at each thermal stress.

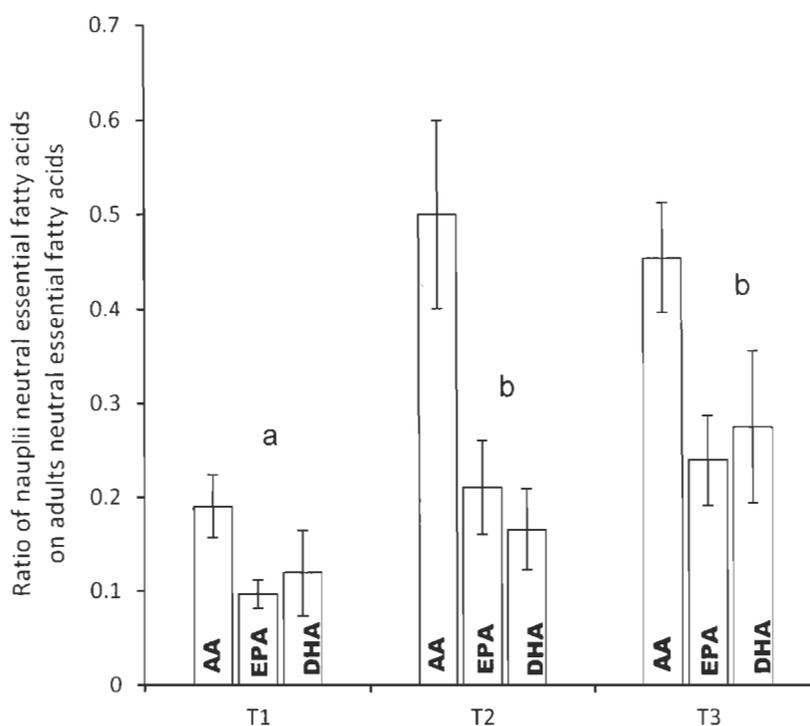


Figure 33: Ratio of adults neutral essential fatty acids assemblage on nauplii essential fatty acids assemblage (mean + SE), depending on different period of time. AA = arachidonic acid (20:4n6); EPA = eicosapentaenoic acid (20:5n3); DHA = docosahexaenoic acid (22:6n3). Different letters indicate significant differences in time treatment.

## DISCUSSION

In this study, we used an experimental approach to evaluate maternal resource allocation to offspring in the tropical acorn barnacle *Chthamalus bisinuatus*; a species inhabiting marine intertidal coastlines that may be exposed to enduring oligotrophic conditions and high temperature desiccation. Apparently, the response of parental populations to food shortage fit in the anticipatory allocation model, since no differences were observed in neutral lipids accumulation in nauplii, length of nauplii, reproduction effort and nauplii survival. The low-food daily ration represented 0.6% and the high food ration 3% of the total adult barnacle biomass. However, in addition of high thermal stress simulating exposure during hot summer emersion periods (Lewis 1960, 1963, Newell 1969, Helmuth & Hofmann 2001), our results seem to suggest that mothers could follow a 'selfish' strategy, producing low-quality larvae. For this condition, overall fecundity dropped by 47%, and average naupliar size was 8% smaller than baseline valued. Low food supply and high thermal stress also led to long-term higher mortality in adults. Furthermore, essential fatty acids (DHA, EPA and AA) were preserved by adults and not transferred to first nauplii stages, regardless of food supply and thermal stress. These results could also suggest a selfish strategy because these fatty acids have been clearly demonstrated to be essential for the growth and survival and their biosynthetic production considered generally insufficient to satisfy the nutritional requirements of marine animals (see Glencross 2009 for review)

### **Impact of food supply**

The first hypothesis stipulated that high food supply would enable adult barnacles to produce high quality larvae. Yet, our barnacle populations maintained *ad libitum* did not produce larger numbers of nauplii, neither affect their neutral fatty acid profile, their size, or their survival (Fig. 9A and 10A). FA composition in the algal mix could explain the lack of adults FA content and mortality differentiation observed between populations

maintained under the two different food conditions. Furthermore, no difference was observed in adult growth in all treatment. What we defined as a low-food treatment might be high enough for this species, even if a ratio of 3 to 6% of microalgae by biomass of adults has been shown necessary to support reproductive needs in bivalves hatcheries (Helm et al. 2004). Our results could suggest that this barnacle species in this oligotrophic environment is very well adapted to the low food availability to support reproduction with food availability lesser than 1% of the adults' biomass

Larvae and adult barnacles feed on the natural seston to obtain their food, including lipid resources (Whyte et al. 1989, 1991, Soudant, Marty, Moal, Robert, et al. 1996, Nevejan et al. 2003, Pernet et al. 2005). A part of those fatty acids could be used for energetic need ( $\beta$ -oxidation), stored as energetic reserve (neutral fraction) or used for cell membranes structure (polar fraction; Waldock & Holland 1978, Gallager & Mann 1986, Spector & Yorek 1985, Pernet et al. 2003). So, the analyses of lipid profiles of adults, larvae and their food provided information on preferentially fatty acids ingested and retained. It's important to notice that fatty acids incorporation in neutral lipids reflect more closely the food composition ingested as there are less regulated than fatty acids in polar lipids (Delaunay et al. 1993, Caers et al. 2002). The comparison between the natural seston and the algal mix informs on resource available for adults. Barnacles FA profiles resulting from the different trophic resources (before and after the 22 d acclimation) show potential modifications by acclimation to experimental diets. The low ratio ( $<1$ ) of 16:1/16:0 and EPA/DHA indicated that planktonic composition should be mainly dominated by dinoflagellates comparatively to diatom (Napolitano et al. 1997, Budge & Parrish 1998, Dalsgaard et al. 2003, Wilson et al. 2010). Despite the low amount of DHA and EPA ( $<5\%$ ) in the natural seston, adults sampled at T-1 accumulated those EFA over than 35% in the neutral fraction. Thus, in this environment generally considered as oligotrophic, *Chthamalus bisinuatus* succeeded to selectively accumulating essential fatty acids (DHA, EPA and AA) from phytoplanktonic species (Martínez-Pita et al. 2005).

The mix of algae used as experimental diet was significantly different from the natural seston by the higher contents of 14:0, 16:1n7, DHA and EPA comparatively to

natural seston. The 14:0 and 16:0 have been showed to be important for the growth of marine organisms (Thompson et al. 1993, Nevejan et al. 2003), as the energy is more efficiently released by  $\beta$ -oxidation of these saturated fatty acids than mono- or polyunsaturated fatty acids (Langdon & Waldock 1981). EPA is an essential fatty acid, but also known for its energetic function in marine bivalves (Marty et al. 1992, Utting & Millican 1997, Pernet et al. 2005). Despite this significant difference between the lipids profiles of the natural seston and the mix of algae; and the quantities of algae mix gave in the HF and LF treatment; no difference appeared in total neutral fatty acids content and FA profiles between adults adults from T-1 and adults from both HF and LF treatment after acclimation. This result demonstrated the very high capacity of barnacles to ingest mainly planktonic species and to selectively accumulate their EFA in both energetic reserve lipids (neutral fraction) and membranes (polar fraction).

Our results show that the DHA was strongly selectively assimilate by adults fed on experimental diet. Whereas the 18:1n9, 18:2n6 and 18:2n3 are precursors of AA, EPA and DHA, the enzymes to synthesize these EFA are generally considered not functional or very limited in marine animals (Dalsgaard et al. 2003, Barnathan 2009, Glencross 2009) and these EFA need thus to be ingested from the food. We observe also that the different FA categories (SFA, MUFA, PUFA and EFA) were sensibly the same between adults sampled at T<sub>-1</sub> and T<sub>0</sub>, suggesting the possible metabolic need to maintain the equilibrium between these different FA categories (Soudant, Marty, Moal, & Samain et al. 1996). Another way to analyze selective assimilation is the use of essential fatty acids (EFA) ratio between adults' polar lipids and food (Fig. 12) (Pernet & Tremblay 2004, Gendron et al. 2013). This ratio indicates selective incorporation or elimination in the membranes (polar lipid) of adults of a given dietary fatty acid and could be used as indicator of nutritional quality (Copeman et al. 2002). This analysis showed that the DHA amount in the algae mix seems to be limited, as all ratios were higher than 1 for all treatments. It is known that DHA has an important role for the development and maintenance of both the structural and function of cell membranes in marine bivalves (Marty et al. 1992, Whyte et al. 1992, Soudant et al. 1998).

Nauplii were removed from the aquaria in the first hour and half after immersion. Because first stage nauplii do not feed during their first stage (Achituv et al. 1980), the only source of lipids originated from the mother. The relative amount of EFAs was low in nauplii at  $T_0$  despite their important role for larval development (Soudant, Marty, Moal, Robert, et al. 1996, Bautista-Teruel et al. 2001, Caers et al. 2002, Nevejan et al. 2003, Hendriks et al. 2003, Pernet et al. 2005). The analyses of the ratio of nauplii neutral FA on adults neutral FA, shows that EFAs were strongly retained in adults, particularly for DHA and EPA. Mother barnacles thus have selectively retained those EFA inducing a very limited transfer to nauplii stages. So, even if mothers generally follow an anticipatory strategy, succeeding to maintain the nauplii (no effect of length, survival and neutral lipids accumulation) and their own (no effect on adult mortality, reproductive effort and lipid accumulation) performance, when food was limited, they seem to follow a selfish strategy concerning the transfer of EFA (especially DHA), retaining EFA from the food without transfer to nauplii.

Further experiments must be conducted in order to test whether the absence of food effects was due to improper setting of a low-supply condition, or indeed an indication of an anticipatory effect, leading to a compensation of the lack of nutritive resources. Furthermore, an experimental diet showing more appropriate EFA content to satisfy barnacle need in their polar lipid fraction, could be used to test if the selfish strategy observed concerning EFA transfer was related to food quality. Bertram & Strathmann (1998) also mentioned that maternal nutrition does not affect planktonic larval form but larval nutrition does. That could be a second hypothesis of the absence of food effect on larval length.

### **Impact of thermal stress**

In the second hypothesis, we predicted that thermal stress brings to an early spawning, leading to low quality larvae. No early spawning emerged from the experiment. In fact, the thermal stress seemed to reduce the reproduction effort (Fig. 8B). A thermal

stress combined with a low food supply led to a poor larval quality (reduced larval length and survival). Also, no difference was observed in adult growth in all treatments which could mean that thermal stress doesn't imply a change in the allocation of resources for growth (Cotter et al. 2010).

The larval production was sensibly lower for adults under thermal stress compared to the control ones. Surprisingly, we observed a decrease in larval size only after the first thermal stress and not the two others. We suggest that this first event was so stressful (45°C during 12h) that it might have eliminated all weak adults leaving only the stronger releasing larger nauplii. However, no measures of stress sensitivity or genetic diversity have been realized to confirm this hypothesis. We observed a low food availability effect only when adults suffered from thermal stress. At this specific combination of thermal stress and low food availability, adults produced smaller larvae (Fig. 9) with lower survivorship (Fig. 10).

Thermal stress had no effect on neutral FA amount neither in adults nor in nauplii but it induced significant FA profile changes in the adults' polar lipids, particularly by a higher accumulation of DHA (Table 1). Remodeling membrane lipids, particularly fatty acid composition, to counteract the temperature effect has been largely demonstrated in several ectotherm species. This phenomenon has been called homeoviscous adaptation (Hazel 1995). In marine bivalves from temperate areas, an increase in temperature (Pernet, Tremblay, et al. 2007, Parent et al. 2008), like during prolonged emersion periods (Pernet, Gautier-Clerc, et al. 2007), has been related to a decrease of DHA in the polar lipid fraction to counteract the disordering effect of rising temperatures. However, opposite results have been observed in our experiment in a tropical area. Thermal stress also induced an increase of 16:0 in both polar and neutral fractions in the nauplii and an increase of 18:0 only in neutral, from T0 to TS. The 18:0 in the polar fraction showed an inverse tendency with a significant decrease between T0 and TS. The 16:0 and 18:0 are supposed to be important in membrane dynamics (Nagan & Zoeller 2001). Pernet, Tremblay, et al. (2007) observed a decrease of 16:0 in the polar fraction of mussel *Mytilus edulis* during overwintering, when the temperature is lower which is inconsistent with our results. Increase of EFA ratio between

nauplii' and adults' neutral fatty acids were observed after  $T_1$ , which could be an indication of higher EFAs transfer from adult barnacles to nauplii. In that case, adults transmitted more EFAs to their brood. Nevertheless, it's noteworthy that the first thermal stress was more intense (45°C during 12h instead of 6h) that might lead to a decrease of EFA transfer from the adults to the nauplii. We also suggest that fewer larvae (reproduction effort reduced) released by adults after thermal stress could be a response to avoid a massive mortality in an environment perceived as hostile. Moreover, adults could increase the survival possibilities of larvae by allocating more EFAs, considered as essential for growth and survival (Glencross 2009). However, the nauplii from stressed adults died earlier in challenging conditions. Thus, the EFA transfer from adults to larvae seemed not sufficient to maintain the survival success at the same level. The ratio of nauplii neutral fatty acids on adults' neutral fatty acids was low for every EFAs ( $< 1$ ), still demonstrating that essential fatty acids are mostly retained by adults. This observation confirms the idea of a 'selfish maternal strategy' from the adults.

## CONCLUSION

Results allowed us to provide support to our hypotheses concerning the capacity of parents to manipulate larval quality and resource allocation per capita. Firstly, without thermal stress, a low-food supply seemed sufficient to input energy for adults to produce larvae of baseline quality. On the other hand, low-food conditions could be compensated by anticipatory allocation. Mothers can anticipate the natal environment and compensate the lack of food by producing broods with an appropriate resistant phenotype. This could explain the lack of differences between the qualities of nauplii produced from populations reared at different food availability. Secondly, thermal stress seemed to be responsible of a selfish strategy. Based on those results, we suggest that in a subtropical coastline, like the São Sebastião Channel, Brazil, high temperatures experienced by *Chthamalus bisinuatus* may not be *a priori* harmful if adequate food supply is provided. Further research based on fieldwork is underway to confirm the effects of thermal stress we observed in the

laboratory. This future study may also help to understand the dynamics of lipid transfer in the stressful intertidal habitat.

**ACKNOWLEDGMENTS:**

We thank all the CEBIMar crew who helps for the experimental design, especially Paula Kasten, Pedro Guerra, Joseilto Medeiros de Oliveira, late Joseph Van Sebroeck, Elso Alves da Silva and Eduardo Honuma. We also thank Mathieu Babin for his precious contribution for the lipid analyses and interpretation. This study was supported by the discovery grant from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and the research network Ressources Aquatiques Québec (RAQ).



## CHAPITRE 2

### CONCLUSION

Par une approche expérimentale, nous avons étudié l'investissement maternel d'un invertébré marin dans un environnement tropical, généralement considéré comme une zone oligotrophe pauvre en apport phytoplanctonique (Eckert 1995, Marañón et al. 2000, Palmer & Totterdell 2001), nous avons utilisé une approche expérimentale. La réponse des parents face à la limitation en nourriture semble correspondre à un modèle d'anticipation de l'allocation de la ressource énergétique. En effet, aucune différence n'a été observée dans l'effort reproductif, l'accumulation de lipides chez les larves ainsi que la taille et la survie des larves. Lorsqu'un stress thermique est ajouté, simulant l'exposition au soleil durant les périodes d'émersions l'été (Lewis 1960, 1963, Newell 1969, Helmuth & Hofmann 2001), les mères semblent adopter une stratégie 'égoïste' en produisant moins de larves (47% de moins avec un stress thermique) et de taille inférieure (8% plus petites). De plus, les acides gras essentiels (DHA, EPA et AA) n'ont pas été transférés des adultes vers les nauplii, tous facteurs confondus. Ces acides gras ayant été démontrés comme essentiels pour la croissance et la survie chez les animaux marins, ces résultats suggèrent également une réponse suivant une stratégie 'égoïste'.

L'effet maternel est un effet non-génétique du phénotype ou de l'environnement maternel sur le phénotype de la descendance. La mère va apporter à ses progénitures les ressources nutritionnelles nécessaires jusqu'à ce qu'elles puissent se nourrir par elles-mêmes. Chez la plupart des organismes, la mère va également déterminer l'environnement dans lequel sa descendance va être libérée et/ou se développer. L'effet maternel est reconnu comme étant important dans le système terrestre mais est très peu discuté dans le milieu marin bien qu'il soit aussi fondamental (Marshall et al. 2008). La mère, dans un milieu

terrestre ou marin, peut agir sur l'approvisionnement de sa descendance et donc leur taille (Fox et al. 1997), leur dispersion, leur dormance (Mousseau & Dingle, 1991), leurs défenses face à la prédation (Agrawal et al. 1999) et aux polluants (Vidal & Horne 2003) et, dans certains cas autres que celui des balanes, le site de la ponte (Mousseau & Dingle, 1991).

Durant notre expérience, les différences entre un faible et un fort apport nutritif montrent que la réponse des mères se rattache à un modèle du type AME (effet maternel anticipatoire, 'anticipatory mother effects', AME, Marshall & Uller, 2007). En effet, malgré une abondance alimentaire variant d'un facteur 5, aucune différence, n'a été observée, dans l'accumulation de lipides neutres, la taille des nauplii, l'effort de reproduction ou le temps de survie des nauplii en condition de jeûne. Le modèle du type AME (effet maternel anticipatoire, 'anticipatory mother effects', AME) est un bon exemple de la manipulation de la taille de la progéniture par la mère. *Stator limbatus*, de la grande famille des bruches, pondent leurs œufs sur une couche de graine. Lorsque celle-ci est épaisse (donc bien défendue) ces bruches produisent des œufs plus gros, avec plus de ressources nutritives, afin qu'elles aient plus de ressources pour percer à travers ces semences épaisses, dans lesquelles elles passent la plus grande partie de leur vie (Fox et al. 1997). Chez les invertébrés marins qui se développent en colonies, la taille des larves peut influencer la survie, la croissance et la reproduction (Marshall, Bolton, et al. 2003, Marshall & Keough 2006). Bien que très peu testé chez les organismes marins, il serait logique que la mère produise de plus gros œufs/larves lorsque le milieu est pauvre en ressources nutritives. Par exemple, Guisande et al. (1996) ont montré que les mères du copépode *Euterpina acutifrons* produisent des larves plus grosses lorsqu'elles sont dans un milieu pauvre en apport nutritif. Ce changement de la taille des descendants est présenté comme une stratégie AME. En plus de compenser le manque d'apport énergétique, cela permettrait aux larves d'explorer des zones plus éloignées et donc possiblement plus propices (Marshall et al. 2008). Dans notre expérience, l'absence de différence de la taille des nauplii entre les deux traitements alimentaires pourrait suggérer une compensation du faible apport nutritionnel par les mères afin de produire de nauplii de qualité similaire (taille et

contenu lipidique). Cependant, il est important de noter qu'il y a une forte ambiguïté et imprévisibilité de la pression de sélection sur la taille des larves des espèces ayant un cycle de vie complexe (Marshall & Keough 2006). Par exemple, une espèce maintenue à forte densité d'individus (comme pour nos populations de *C. bisinuatus*) produisent de plus petits œufs (et donc de plus petites larves) et favorisés lors de la fécondation, car moins susceptibles à la polyspermie (Marshall & Keough, 2003b). Néanmoins, la production de larves plus petites limite leur dispersion (Marshall & Bolton 2007), ce qui leur est défavorable en présence d'individus de la même espèce (Marshall & Keough 2003a). La plasticité de la taille des descendants, chez les espèces ayant un cycle de vie complexe, est donc soumise à des contraintes fortes (Marshall et al. 2008). Il faudrait donc évaluer le temps et le succès de fixation des larves soumises à ces différentes contraintes nutritives et de stress thermique, en fonction de leur taille et de leur contenu lipidique au stade I. Ces résultats permettraient d'étudier la capacité des nauplii à ajuster le délai de leur métamorphose pour compenser le manque de nourriture (Hentschel and Emler 2000, Thiagarajan et al. 2003).

Le mélange de microalgues donné aux adultes, lors de l'expérience en laboratoire, a montré un profil en acides gras (AG) significativement différent de celui obtenu pour le seston naturel au moment de la récolte des adultes. L'EPA et le 14:0, retrouvés en grande quantité dans le mélange de microalgues par rapport au seston, ont un rôle important dans la croissance (Thompson et al. 1993, Nevejan et al. 2003) et les fonctions énergétiques (Marty et al. 1992, Utting & Millican 1997, Pernet et al. 2005). Le DHA, aussi présent en quantité relativement élevée dans le mélange de microalgues, a un rôle essentiel pour le développement des larves en maintenant l'intégrité structurale et fonctionnelle des membranes cellulaires (Marty et al. 1992, Delaunay et al. 1993) tel que démontré chez les poissons (Navarro & Sargent 1992, Watanabe 1993, Bell & Sargent 2003), les bivalves (Marty et al. 1992, Whyte et al. 1992, Soudant et al. 1998), les gastéropodes (Bautista-Teruel et al. 2001), les oursins (Liu et al. 2007a, b) et les crustacés (Kanazawa et al. 1985, Merican & Shim 1996, Suprayudi et al. 2004). Considérant la relative importance de ces trois acides gras (14:0, 20:5n3 et 22:6n3) dans le mélange de microalgues utilisé pour

nourrir les balanes adultes, nous pouvons supposer que ce que nous avons défini comme un faible apport nutritif pourrait être suffisant pour maintenir en bonnes conditions les balanes. Ces résultats pourraient aussi suggérer un fort potentiel adaptatif de ces balanes à des apports nutritionnels faibles, expliquant l'absence d'effet sur la mortalité et l'effort reproductif des adultes ainsi que la qualité des larves. Dans le but de comparer, il faudrait donc réaliser une expérience similaire avec un apport nutritif plus faible ( $< 0,6\%$  de la biomasse sèche totale de la balane).

Au regard des résultats obtenus par l'étude de l'apport nutritionnel, d'autres expériences devront être menées afin de déterminer si cette absence de carence trophique est liée à la qualité de la nourriture ou d'une compensation maternelle par les balanes adultes (modèle AME).

Suite à un stress thermique simulant une importante exposition lors d'une journée ensoleillée durant une émergence en zone intertidale (Lewis 1960, 1963, Newell 1969, Helmuth & Hofmann 2001), la réponse des mères semblent suivre un modèle SME (effet maternel égoïste, 'selfish maternal effects', SME, Marshall & Uller, 2007) caractérisé par une diminution de la production et de la taille des larves. Une diminution de la taille des descendants, suite à l'augmentation de la température, a été déjà observée chez les poissons mais il est difficile d'affirmer s'il s'agit d'une réponse adaptative ou un effet de la température sur le développement et la croissance (Chambers 1997). L'accroissement de la température augmente la consommation d'oxygène des organismes ectothermes (Baynes & Howell 1996). Comme les œufs plus gros, avec un contenu lipidique plus élevé, nécessitent plus d'oxygène (Strathmann & Chaffee 1984, Moran & Allen 2007), les mères peuvent réduire la taille de leur progénitures lorsque la température augmente afin d'éviter une hypoxie (Marshall et al. 2008). D'autre part, il semble également que les mères retiennent préférentiellement les acides gras essentiels (DHA, EPA et AA) et les transfèrent de façon très limitée aux larves, sans influence de l'environnement trophique et thermique. Ces résultats suggèrent un modèle SME puisqu'il a clairement été démontré que ces acides gras sont essentiels à la croissance et la survie des organismes marins (Glencross 2009).

Le quatrième et dernier objectif était d'évaluer l'effet de la température. Au contraire d'une ponte précoce suite à un stress thermique, il a été observée une diminution de l'effort reproductif. L'augmentation de température combinée à un faible apport nutritif engendre une faible qualité larvaire (taille plus petite et faible taux de survie). Les balanes adultes semblent percevoir une perturbation et réduisent leur production et la qualité larvaire.

Un changement dans la rétention des AG chez les adultes a également été constaté sous stress thermique. Contrairement à ce qui est mentionné dans la littérature, les balanes adultes ont préférentiellement accumulé du DHA dans leurs lipides membranaires (fraction polaire). En effet, chez les espèces ectotherme, la mobilisation des lipides va être modifiée pour contrer l'effet de l'augmentation de la température (Hazel 1995). Par exemple, pour les invertébrés marins, le DHA diminue dans les membranes en réponse à une hausse de la température (Pernet, Gauthier-Clerc, et al. 2007, Pernet, Tremblay, et al. 2007). Toutefois, nos résultats vont dans le sens inverse et ne peuvent être expliqués par ce phénomène. Il faudrait pouvoir évaluer l'activité nutritive des adultes afin de discriminer si les changements dans l'assemblage des AG proviennent d'une diminution de la nutrition ou d'altérations dues au stress.

Nos résultats ouvrent plusieurs perspectives. Tout d'abord, un faible apport nutritif, et donc d'acides gras, semble suffisant pour permettre aux adultes de produire des larves de qualité similaire. Il est donc possible que d'autres éléments que les AG, comme les protéines ou les carbohydrates, soient impliqués dans la qualité des larves produites (Pandian 1969, Whyte et al. 1989, Whyte et al. 1990b, Thiagarajan et al. 2003, Weber 2011). Deuxièmement, contrairement aux études antérieures sur les invertébrés marins (Pernet, Gauthier-Clerc, et al. 2007, Pernet, Tremblay, et al. 2007), le DHA ne diminue pas dans les membranes des adultes *Chthamalus bisinuatus* en réponse à une hausse de la température. Il serait donc intéressant d'étudier la dynamique d'accumulation du DHA chez d'autres espèces de balanes lors d'un stress thermique afin d'établir si ce phénomène observé leur est propre.

Suite à ces résultats, nous émettons l'hypothèse qu'en zone subtropicale, comme sur les côtes de l'état de São Paulo, l'élévation de la température n'est, *a priori*, pas

dommageable pour les balanes si elle est combinée à un apport nutritif suffisant. Pour confirmer ces hypothèses, il serait intéressant d'évaluer l'importance du stress thermique chez ces organismes et leurs mécanismes de protection employés, comme les mécanismes antioxydants (Lesser *et al.* 2010, Genard *et al.* 2011), les protéines de chocs thermique ou chaperonnes, la réponse métabolique, etc (Helmuth and Hofmann, 2001, Lesser *et al.* 2010, Genard *et al.* 2012).



## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Achituv Y, Blackstock J, Barnes M, Barnes H (1980) Some biochemical constituents of stage I and II nauplii of *Balanus balanoides* (L.) and the effect of anoxia on stage I. *J Exp Mar Bio Ecol* 42(1):1–12
- Agrawal AA, Laforsch C, Tollrian R (1999) Transgenerational induction of defences in animals and plants. *Nature* 401(6748):60–63
- Alfaro AC (2005) Effect of water flow and oxygen concentration on early settlement of the New Zealand green-lipped mussel, *Perna canaliculus*. *Aquaculture* 246(1):285–294
- Alfaro AC (2006) Byssal attachment of juvenile mussels, *Perna canaliculus*, affected by water motion and air bubbles. *Aquaculture* 255(1):357–361
- Anderson DT (1994) *Barnacles: Structure, function, development and evolution*. Chapman & Hall, London
- Anderson MJ (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol* 26(1):32–46
- Anderson T, Buckle J (1983) Cirral activity and feeding in the coronuloid barnacles *Tesseropora rosea* (Krauss) and *Tetraclitella purpurascens* (Wood) (Tetraclitidae). *Bull Mar Sci* 33(3):645–655
- Anderson MJ, Gorley RN, Clarke KR (2008) *PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods*. PRIMER-E, Plymouth
- Anderson MJ, Robinson J (2003) Generalized discriminant analysis used on distances. *Aust New Zeal J Stat* 45(3):301–318
- Archambault P, Bourget E (1999) Influence of shoreline configuration on spatial variation of meroplanktonic larvae, recruitment and diversity of benthic subtidal communities. *J Exp Mar Biol* 238(2): 161–184
- Barnathan G (2009) Non-methylene-interrupted fatty acids from marine invertebrates: Occurrence, characterization and biological properties. *Biochimie* 91(6):671–678

- Barnes M, Achituv Y (1981) The nauplius stages of the cirripede *Tetraclita squamosa rufotincta* Pilsbry. *J Exp Mar Bio Ecol* 54(2):149–165
- Bautista-Teruel MN, Millamena OM, Fermin AC (2001) Reproductive performance of hatchery-bred donkey's ear abalone, *Haliotis asinina*, Linne, fed natural and artificial diets. *Aquac Res* 32(s1):249–254
- Baynes SM, Howell BR (1996) The influence of egg size and incubation temperature on the condition of *Solea solea* (L.) larvae at hatching and first feeding. *J Exp Mar Bio Ecol* 199(1):59–77
- Bell JG, Sargent JR (2003) Arachidonic acid in aquaculture feeds: current status and future opportunities. *Aquaculture* 218(1):491–499
- Bergé J-P, Barnathan G (2005) Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 96:49–125
- Bertram DF, Strathmann RR (1998) Effects of maternal and larval nutrition on growth and form of planktotrophic larvae. *Ecology* 79(1):315–327
- Budge SM, Parrish CC (1998) Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity Bay, Newfoundland. II. Fatty acids. *Org Geochem* 29(5):1547–1559
- Caers M, Utting SD, Coutteau P, Millican PF, Sorgeloos P (2002) Impact of the supplementation of a docosahexaenoic acid-rich emulsion on the reproductive output of oyster broodstock, *Crassostrea gigas*. *Mar Biol* 140(6):1157–1166
- Chambers RC (1997) Environmental influences on egg and propagule sizes in marine fishes. Early life history and recruitment in fish populations. Springer Netherlands 63-102
- Chan BKK (2003) Studies on *Tetraclita squamosa* and *Tetraclita japonica* ( cirripedia : thoracica ) ii : larval morphology and development. *J Crustac Biol* 23(3):522–547
- Chan BKK, Tsang LM, Chu KH (2006) Morphological and genetic differentiation of the acorn barnacle *Tetraclita squamosa* (Crustacea, Cirripedia) in East Asia and description of a new species of *Tetraclita*. *Zool Scr* 36(1):79–91
- Christofolletti R a., Takahashi CK, Oliveira DN, Flores A a. V (2010) Abundance of sedentary consumers and sessile organisms along the wave exposure gradient of

subtropical rocky shores of the south-west Atlantic. *J Mar Biol Assoc United Kingdom* 91(5):961–967

- Copeman L a., Parrish CC, Brown J a., Harel M (2002) Effects of docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids on the early growth, survival, lipid composition and pigmentation of yellowtail flounder (*Limanda ferruginea*): a live food enrichment experiment. *Aquaculture* 210(1):285–304
- Cotter SC, Ward RJS, Kilner RM (2010) Age-specific reproductive investment in female burying beetles: independent effects of state and risk of death. *Funct Ecol* 25(3):652–660
- Covey C, Abe-Ouchi a., Boer GJ, Boville B a., Cubasch U, Fairhead L, Flato GM, Gordon H, Guilyardi E, Jiang X, Johns TC, Treut H Le, Madec G, Meehl G a., Miller R, Noda a., Power SB, Roeckner E, Russell G, Schneider EK, Stouffer RJ, Terray L, Storch J-S von (2000) The seasonal cycle in coupled ocean-atmosphere general circulation models. *Clim Dyn* 16(10-11):775–787
- Dalsgaard J, St John M, Kattner G, Müller-Navarra D, Hagen W (2003) Fatty acid trophic markers in the pelagic marine environment. *Adv Mar Biol* 46:225–340
- Davenport J, Smith RJJW, Packer M (2000) Mussels *Mytilus edulis* : significant consumers and destroyers of mesozooplankton. *Mar Ecol Prog Ser* 198:131–137
- Delaunay F, Marty Y, Moal J, Samain J-F (1993) The effect of monospecific algal diets on growth and fatty acid composition of *Pecten maximus* ( L . ) larvae. *J Exp Mar Bio Ecol* 173(2):163–179
- Dobretsov SV, Railkin AI (1996) Effects of substrate features on settling and attachment of larvae in blue mussel *Mytilus edulis* (Mollusca, Filibranchia). *Zoologicheskyy Zhurnal* 75(4):499-506
- Dobretsov SV, Wahl M (2001) Recruitment preferences of blue mussel spat (*Mytilus edulis*) for different substrata and microhabitat in the White sea (Russia). *Hydrobiologia* 445:27-35
- Eckelbarger KJ (1994) Diversity of metazoan ovaries and vitellogenic mechanisms: implications for life history theory. *Proceeding Biol Soc Washingt* 107(1):193–218
- Eckman JE (1987) The role of hydrodynamics in recruitment, growth, and survival of *Argopecten irradians* (L.) and *Anomia simplex* (D'Orbigny) within eelgrass meadows. *J Exp Mar Biol Ecol* 106: 165–191

- Eckert GL (1995) A novel larval feeding strategy of the tropical sand dollar, *Encope michelini* (Agassiz): Adaptation to food limitation and an evolutionary link between planktotrophy and lecithotrophy. *J Exp Mar Bio Ecol* 187(1):103–128
- Erlandsson J, McQuaid C (2004) Spatial structure of recruitment in the mussel *Perna perna* at local scales: effects of adults, algae and recruit size. *Mar Ecol Prog Ser* 267:173–185
- Erlandsson J, McQuaid CD, Kostylev VE (2005) Contrasting spatial heterogeneity of sessile organisms within mussel (*Perna perna* L.) beds in relation to topographic variability. *J Exp Mar Bio Ecol* 314(1):79–97
- Eston VR, Galves A, Jacobi CM, Mi RI, Langevin R, Tanaka NI (1986) *Chthamalus bisinuatus* (Cirripedia) and *Brachidontes solisianus* (bivalvia) spatial interactions: a stochastic model. *Ecol Modell* 34(1):99–113
- Ezgeta-Balić D, Najdek M, Peharda M, Blažina M (2012) Seasonal fatty acid profile analysis to trace origin of food sources of four commercially important bivalves. *Aquaculture* 334:89–100
- Farrapeira CMR, Federal U, Medeiros RDM De, Irmãos D (2009) Barnacles ( Crustacea : Cirripedia ) of the estuarine and marine areas of the port of Recife ( Pernambuco , Brazil ). *Cah Biol Mar* 50(2):119–129
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 226(1):497–509
- Fox CW, Thakar MS, Mousseau TA, The S, Naturalist A, Jan N (1997) Egg size plasticity in a seed beetle: an adaptative maternal effect. *Am Nat* 149:149–163
- Fraser A (1989) Triacylglycerol content as a condition index of fish, bivalve, and crustacean larvae. *Can J Fish Aquat Sci* 46(11):1868–1873
- Gagné R, Tremblay R, Pernet F, Miner P, Samain J-F, Olivier F (2010) Lipid requirements of the scallop *Pecten maximus* (L.) during larval and post-larval development in relation to addition of *Rhodomonas salina* in diet. *Aquaculture* 309(1):212–221
- Gallager SM, Mann R (1986) Growth and survival of larvae of *Mercenaria mercenaria* (L.) and *Crassostrea virginica* (Gmelin) relative to broodstock conditioning and lipid content of eggs. *Aquaculture* 56(2):105–121
- Garrity SD (1984) Some adaptations of gastropods to physical stress on a tropical rocky shore. *Ecology* 65:559–574

- Génard B, Moraga D, Pernet F, David E, Boudry P, Tremblay R (2012). Expression of candidate genes related to metabolism, immunity and cellular stress during massive mortality in the American oyster *Crassostrea virginica* larvae in relation to biochemical and physiological parameters. *Gene* 499:70-75
- Génard B, Pernet F, Lemarchand K, Boudry P, Moraga D (2011) Physiological and biochemical changes associated with massive mortality events occurring in larvae of American oyster (*Crassostrea virginica*). *Aquat Living Resour* 24(3):247–260
- Gendron L, Tremblay R, Belvin S, Génard B, Motnikar S, Côté J (2013) Condition, survival and growth in situ of hatchery-reared stage IV lobster (*Homarus americanus*) fed *Artemia* and lipid-rich wild zooplankton. *Aquaculture* 416-417:380–389
- Glencross BD (2009) Exploring the nutritional demand for essential fatty acids by aquaculture species. *Rev Aquac* 1(2):71–124
- Gosselin L, Qian P (1997) Juvenile mortality in benthic marine invertebrates. *Mar Ecol Prog Ser* 146(1):265–282
- Guisande C, Sanchez J, Maneiro I, Miranda A (1996) Trade-off between offspring number and offspring size in the marine copepod *Euterpina acutifrons* at different food concentrations. *Mar Ecol Prog Ser* 143(1):37–44
- Harvey M, Bourget E, Legault C, Ingram RG (1995) Short-term variations in settlement and early spat mortality Iceland scallop, *Chlamys islandica* (O.F. Muller). *J Exp Mar Biol Ecol* 194: 167–187
- Harvey M, Bourget E (1997) Recruitment of marine invertebrates onto arborescent epibenthic structures: active and passive processes acting at different spatial scales. *Mar Ecol Prog Ser* 153:203-215
- Hazel JR (1995) Thermal adaptation in biological membranes: is homeoviscous adaptation the explanation? *Annu Rev Physiol* 57(1):19-42
- Helm MM, Bourne N, Lovatelli A (2004) Hatchery culture of bivalves. A practical manual. *FAO Fish Tech Pap*. Rome, FAO, 177p
- Helmuth BS, Hofmann GE (2001) Microhabitats, thermal heterogeneity, and patterns of physiological stress in the rocky intertidal zone. *Biol Bull* 201(3):374–384
- Hendriks IE, Duren L a van, Herman PM. (2003) Effect of dietary polyunsaturated fatty acids on reproductive output and larval growth of bivalves. *J Exp Mar Bio Ecol* 296(2):199–213

- Hentschel BT, Emler RB (2000) Metamorphosis of barnacle nauplii: effects of food variability and a comparison with amphibian models. *Ecology* 81(12):3495-3508
- Holm ER, McClary MJ, Rittschof D (2000) Variation in attachment of the barnacle *Balanus amphitrite*: sensation or something else? *Mar Ecol Prog Ser* 202:153-162
- Hughes TP, Baird AH, Dinsdale EA, Moltchanivskyj NA, Pratchett MS, Tanner JE, Willis BL (2000) Supply-side ecology works both ways: the link between benthic adults, fecundity, and larval recruits. *Ecology* 81(8):2241-2249
- Incze LS, Lutz R a., Watling L (1980) Relationships between effects of environmental temperature and seston on growth and mortality of *Mytilus edulis* in a temperate northern estuary. *Mar Biol* 57(3):147-156
- Javoš J, Tammaru T (2004) Reproductive decisions are sensitive to cues of life expectancy: the case of a moth. *Anim Behav* 68(2):249-255
- Kanazawa A, Teshima S-I, Sakamoto M (1985) Effects of dietary lipids, fatty acids, and phospholipids on growth and survival of prawn (*Penaeus japonicus*) larvae. *Aquaculture* 50(1):39-49
- Kasten P, Flores A (2013) Disruption of endogenous tidal rhythms of larval release linked to food supply and heat stress in an intertidal barnacle. *Mar Ecol Prog Ser* 472:185-198
- Keough MJ (1998) Responses of settling invertebrate larvae to the presence of established recruits. *J Exp Mar Bio Ecol* 231(1):1-19
- Kharlamenko VI, Zhukova NV, Khotimchenko SV, Svetashev VI, Kamenev GM (1995) Fatty acids as markers of food sources in a shallow-water hydrothermal ecosystem (Kraternaya Bight, Yankich Island, Kurile Islands). *Mar Ecol Prog Ser. Olendorf* 120(1):231-241
- Koehl MAR, Hadfield MG (2010) Hydrodynamics of larval settlement from a larva's point of view. *Integr Comp Biol* 50(4):539-551
- Koehl MAR, Reidenbach MA (2007) Swimming by microscopic organisms in ambient water flow. *Exp Fluids* 43(5):755-768
- Langdon C, Pernet F, Tremblay R, Bourget E (2004) Effect of additions of dietary triacylglycerol microspheres on growth, survival, and settlement of mussel (*Mytilus* sp.) larvae. *Mar Biol* 144(4):693-703

- Langdon CJ, Waldock MI (1981) The effect of algal and artificial diets on the growth and fatty acid composition of *Crassostrea gigas* spat. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 61(02):431-440
- Lee RF, Hagen W, Kattner G (2006) Lipid storage in marine zooplankton. Mar Ecol Prog Ser 307:273–306
- Lee C, Kim CH (1991) Larval development of *Balanus albicostatus* Pilsbry (Cirripedia, Thoracica) reared in the laboratory. J Exp Mar Bio Ecol 147(2):231–244
- Lepage G, Roy CC (1984) Improved recovery of fatty acid through direct transesterification without prior extraction or purification. J Lipid Res 25(2):1391–1396
- Lesser MP, Bailey MA, Merselis DG, Morrison JR (2010) Physiological response of the blue mussel *Mytilus edulis* to differences in food and temperature in the Gulf of Maine. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol 156(4):541-551
- Lewis JB (1960) The fauna of rocky shores of Barbados, West Indies. Can J Zool 38(2):391–435
- Lewis JB (1963) Environmental and tissue temperatures of some tropical intertidal marine animals. Biol Bull 124(3):277–284
- Lewis CA (1975) Development of the gooseneck barnacle *Pollicipes polymerus* (Cirripedia: Lepadomorpha): Fertilization through settlement. Mar Biol 32(2):141–153
- Liu H, Kelly MS, Cook EJ, Black K, Orr H, Zhu JX, Dong SL (2007a) The effect of diet type on growth and fatty acid composition of the sea urchin larvae, II. *Psammechinus miliaris* (Gmelin). Aquaculture 264(1):263–278
- Liu H, Kelly MS, Cook EJ, Black K, Orr H, Zhu JX, Dong SL (2007b) The effect of diet type on growth and fatty-acid composition of sea urchin larvae, I. *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) (Echinodermata). Aquaculture 264(1):247–262
- Longhurst A, Sathyendranath S, Platt T, Caverhill C (1995) An estimate of global primary production in the ocean from satellite radiometer data. J Plankton Res 17(6) 1245-1271
- Lucas MI, Walker G, Holland DL, Crisp DJ (1979) An energy budget for the free-swimming and metamorphosing larvae of *Balanus balanoides* (Crustacea: Cirripedia). Mar Biol 55(3):221–229

- Marañón E, Holligan PM, Varela M, Mouriño B, Bale AJ (2000) Basin-scale variability of phytoplankton biomass, production and growth in the Atlantic Ocean. *Deep Res I* 47(5):825–857
- Marshall D, Allen RM, Crean AJ (2008) The ecological and evolutionary importance of maternal effects in the sea. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 46:203-250
- Marshall DJ, Bolton TF (2007) Effects of egg size on the development time of non-feeding larvae. *Biol Bull* 212(1):6–11
- Marshall DJ, Bolton TF, Keough MJ, Bolton TE, Keough J (2003) Offspring size affects the post-metamorphic performance of a colonial marine invertebrate. *Ecology* 84(12):3131–3137
- Marshall DJ, Keough MJ (2003a) Effects of settler size and density on early post-settlement survival of *Ciona intestinalis* in the field. *Mar Ecol Prog Ser* 259:139–144
- Marshall DJ, Keough MJ (2003b) Sources of variation in larval quality for free-spawning marine invertebrates: Egg size and the local sperm environment. *Invertebr Repr Dev* 44(1):63-70
- Marshall DJ, Keough MJ (2006) Complex life cycles and offspring provisioning in marine invertebrates. *Integr Comp Biol* 46(5):643–651
- Marshall D, Pechenik J, Keough M (2003) Larval activity levels and delayed metamorphosis affect post-larval performance in the colonial ascidian *Diplosoma listerianum*. *Mar Ecol Prog Ser* 246:153–162
- Marshall DJ, Uller T (2007) When is a maternal effect adaptive? *Oikos* 116(12):1957–1963
- Martínez-Pita AI, García F, Pita M, Martínez-pita I (2005) Fatty acid composition and utilization in developing eggs of some marine nudibranchs ( Mollusca : Gastropoda : Opisthobranchia ) from southwest Spain. *J Shellfish Res* 24(4):1209–1216
- Marty Y, Delaunay F, Moal J, Samain J-F (1992) Changes in the fatty acid composition of *Pecten maximus* (L.) during larval development. *J Exp Mar Bio Ecol* 163(2):221–234
- Mayzaud P, Chanut JP, Ackman, RG (1989) Seasonal changes of the biochemical composition of marine particulate matter with special reference to fatty acids and sterols. *Mar Ecol Prog Ser. Olendorf* 56(1):189–204
- Merican ZO, Shim KF (1996) Qualitative requirements of essential fatty acids for juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture* 147(3):275–291

- Moran AL, Allen JD (2007) How does metabolic rate scale with egg size ? An experimental test with sea urchin embryos. *Biol Bull* 212(2):143–150
- Morgan, SG (1995) Life and death in the plankton: larval mortality and adaptation. *Ecology of marine invertebrate larvae*. CRC Marine Science Series, 6: pp. 279-321
- Mousseau TA, Dingle H (1991) Maternal effects in insect life histories. *Annu Rev Entomol* 36(1) 511-534
- Mousseau TA, Fox CW (1998) The adaptive significance of maternal effects. *TREE* 13(10):403–407
- Nagan N, Zoeller RA (2001) Plasmalogens: biosynthesis and functions. *Prog Lipid Res* 40(3):199–229
- Najdek M, Debobbis D, Mioković D, Ivančić I (2002) Fatty acid and phytoplankton compositions of different types of mucilaginous aggregates in the northern Adriatic. *J Plankton Res* 24(5):429–441
- Napolitano GE, Pollero RJ, Gayoso ANAM, Macdonald BA, Thompson RJ (1997) Fatty acids as trophic markers of phytoplankton blooms in the Bahia Blanca estuary (Buenos Aires, Argentina) and in Trinity Bay (Newfoundland , Canada). *Biochem Syst Ecol* 25(8):739–755
- Navarro JC, Sargent JR (1992) Behavioural differences in starving herring *Clupea harengus* L . larvae correlate with body levels of essential fatty acids. *J Fish Biol* 41(3):509–513
- Nevejan N, Saez I, Gajardo G, Sorgeloos P (2003) Supplementation of EPA and DHA emulsions to a *Dunaliella tertiolecta* diet: effect on growth and lipid composition of scallop larvae, *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819). *Aquaculture* 217(1):613–632
- Newell RC (1969) Effect of fluctuations in temperature on the metabolism of intertidal invertebrates. *Am Zool* 9(2):293–307
- NOAA (2002) Page consultée le 10 janvier 2013. Annual Mean Sea Surface Temperature: 1971 - 2000. [En ligne]. URL: <http://www.cpc.ncep.noaa.gov/products/precip/real>
- Olson RR, Olson MH (1989) Food limitation of planktotrophic marine invertebrate larvae: does it control recruitment success? *Annu Rev Ecol Syst* 20:225–247

- Otway NM, Anderson DT (1985) Variability of shell growth and morphology of the wall-plate junctions of the intertidal barnacle *Tesseropora rosea* (Cirripedia: Tetraclitidae). *Mar Biol* 85(2):171–183
- Palmer JR, Totterdell IJ (2001) Production and export in a global ocean ecosystem model. *Deep Sea Res Part I Oceanogr Res Pap* 48(5):1169–1198
- Pandian TJ (1969) Yolk utilization in the gastropod *Crepidula fornicata* *Mar Biol* 3(2):117–121
- Parrish CC (1987) Separation of aquatic lipid classes by chromarod thin-layer chromatography with measurement by Iatroscan flame ionization detection. *Can J Fish Aquat Sci* 44(4):722–731
- Pechenik JA, Rittschof D, Schmidt AR (1993) Influence of delayed metamorphosis on survival and growth of juvenile barnacles *Balanus amphitrite*. *Mar Biol* 115(2):287–294
- Pechenik JA, Wendt DE, Jarett JN (1998) Metamorphosis is not a new beginning. *Bioscience* 48(1):901–910
- Pernet F, Bricelj VM, Parrish CC (2005) Effect of varying dietary levels of  $\omega$ 6 polyunsaturated fatty acids during the early ontogeny of the sea scallop, *Placopecten magellanicus*. *J Exp Mar Bio Ecol* 327(2):115–133
- Pernet F, Gauthier-Clerc S, Mayrand E (2007) Change in lipid composition in eastern oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin) exposed to constant or fluctuating temperature regimes. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 147(3):557–565
- Pernet F, Tremblay R (2004) Effect of varying levels of dietary essential fatty acid during early ontogeny of the sea scallop *Placopecten magellanicus*. *J Exp Mar Bio Ecol* 310(1):73–86
- Pernet F, Tremblay R, Bourget E (2003) Biochemical indicator of sea scallop (*Placopecten magellanicus*) quality based on lipid class compositions. Part II: larval growth, competency and settlement. *J Shellfish Res* 22(2):377–388
- Pernet F, Tremblay R, Comeau L, Guderley H (2007) Temperature adaptation in two bivalve species from different thermal habitats: energetics and remodelling of membrane lipids. *J Exp Biol* 210(17):2999–3014

- Pineda J, Porri F, Starczak V, Blythe J (2010) Causes of decoupling between larval supply and settlement and consequences for understanding recruitment and population connectivity. *J Exp Mar Bio Ecol* 392(1):9–21
- Qian P-Y, Pechenik J a (1998) Effects of larval starvation and delayed metamorphosis on juvenile survival and growth of the tube-dwelling polychaete *Hydroides elegans* (Haswell). *J Exp Mar Bio Ecol* 227(2):169–185
- Rittschof D, Sin T-M, Teo SL-M, Coutinho R (2007) Fouling in natural flows: Cylinders and panels as collectors of particles and barnacle larvae. *J Exp Mar Bio Ecol* 348(1):85–96
- Roitberg BD, Sircom J, Roitberg CA, Alphen JJM van, Mangel M (1993) Life expectancy and reproduction. *Nature* 364:pp. 108
- Rumrill, SS (1990) Natural mortality of marine invertebrate larvae. *Ophelia* 32(1-2), 163-198
- Schneider DW, Stoeckel JA, Rehmann CR, Blodgett KD, Sparks E, Padilla DK (2003) A developmental bottleneck in dispersing larvae : implications for spatial population dynamics. *Ecol Lett* 6(4):352–360
- Sewell M (2005) Utilization of lipids during early development of the sea urchin *Evechinus chloroticus*. *Mar Ecol Prog Ser* 304:133–142
- Seychelles L, Audet C, Tremblay R, Fournier R, Pernet F (2009) Essential fatty acid enrichment of cultured rotifers (*Brachionus plicatilis*) using frozen-concentrated microalgae. *Aquacult Nut* 15(4):431-439
- Shanks A (2009a) Barnacle settlement versus recruitment as indicators of larval delivery. I. Effects of post-settlement mortality and recruit density. *Mar Ecol Prog Ser* 385:205–216
- Shanks A (2009b) Barnacle settlement versus recruitment as indicators of larval delivery. II. Time-series analysis and hypothesized delivery mechanisms. *Mar Ecol Prog Ser* 385:217–226
- Shanks A, Shearman R (2009) Paradigm lost? Cross-shelf distributions of intertidal invertebrate larvae are unaffected by upwelling or downwelling. *Mar Ecol Prog Ser* 385:189–204
- Sokal RR., Rohlf FJ (1995) *Biometry*. W. H. Freeman and Co., San Francisco.

- Soudant P, Marty Y, Moal J, Masski H, Samain J-F (1998) Fatty acid composition of polar lipid classes during larval development of scallop *Pecten maximus* (L.). *Comp Biochemistry Physiol Part A* 121(3):279–288
- Soudant P, Marty Y, Moal J, Robert R, Quéré C, Coz JR Le, Samain J-F (1996) Effect of food fatty acid and sterol quality on *Pecten maximus* gonad composition and reproduction process. *Aquaculture* 143(3):361–378
- Soudant P, Marty Y, Moal J, Samain J-F (1996) Fatty acids and egg quality in great scallop. *Aquac Int* 4(3):191–200
- Spector AA, Yorek MA (1985) Membrane lipid composition and cellular function. *J Lipid Res* 26(9):1015–1035
- Strathmann RR, Chaffee C (1984) Constraints on egg masses. II. Effect of spacing, size, and number of eggs on ventilation of masses of embryos in jelly, adherent groups, or thin-walled capsules. *J Exp Mar Bio Ecol* 84(1):85–93
- Suprayudi MA, Takeuchi T, Hamasaki K (2004) Essential fatty acids for larval mud crab *Scylla serrata*: implications of lack of the ability to bioconvert C18 unsaturated fatty acids to highly unsaturated fatty acids. *Aquaculture* 231(1):403–416
- Tanaka MO, Duarte LFL (1998) Recruitment variation of the barnacle *Chthamalus bisinuatus* Pilsbry 1916 in an exposed rocky shore in southeast Brazil. *Bull Mar Sci* 62(1):285–292
- Thiyagarajan V, Harder T, Qian P (2002) Relationship between cyprid energy reserves and metamorphosis in the barnacle *Balanus amphitrite* Darwin (Cirripedia; Thoracica). *Mar Biol* 143(1):79–93
- Thiyagarajan V, Harder T, Qiu J-W, Qian P-Y (2003) Energy content at metamorphosis and growth rate of the early juvenile barnacle *Balanus amphitrite*. *Mar Biol* 143(3):543–554
- Thiyagarajan V, Hung O, Chiu J, Wu R, Qian P (2005) Growth and survival of juvenile barnacle *Balanus amphitrite*: interactive effects of cyprid energy reserve and habitat. *Mar Ecol Prog Ser* 299:229–237
- Thiyagarajan V, Nancharaiah Y, Venugopalan V, Nair K, Subramoniam T (2000) Relative tolerance of cirripede larval stages to acute thermal shock: A laboratory study. *J Therm Biol* 25(6):451–457

- Thompson PA, Guo M, Harrison PJ (1993) The influence of irradiance on the biochemical composition of three phytoplankton species and their nutritional value for larvae of the Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*). *Mar Biol* 117(2):259–268
- Thorson G (1949) Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biol Rev* 25(1):1–45
- Thorson G (1966) Some factors influencing the recruitment and establishment of marine benthic communities. *Neth J Sea Res* 3:267–293
- Toupoint N (2011) Le succès de recrutement de la moule bleue: influence de la qualité de la ressource trophique. Thèse de doctorat. Université du Québec à Rimouski, Rimouski, 207 p.
- Toupoint N, Gilmore-Solomon L, Bourque F, Myrand B, Pernet F, Olivier F, Tremblay R (2012) Match/mismatch between the *Mytilus edulis* larval supply and seston quality: effect on recruitment. *Ecology* 93(8):1922–1934
- Tremblay R, Cartier S, Miner P, Pernet F, Quéré C, Moal J, Muzellec M-L, Mazuret M, Samain J-F (2007) Effect of *Rhodomonas salina* addition to a standard hatchery diet during the early ontogeny of the scallop *Pecten maximus*. *Aquaculture* 262(2):410–418
- Tremblay R, Olivier F, Bourget E, Rittschof D (2007) Physiological condition of *Balanus amphitrite* cypris larvae determines habitat selection success. *Mar Ecol Prog Ser* 340:1–8
- Utting SD, Millican PF (1997) Techniques for the hatchery conditioning of bivalve broodstocks and the subsequent effect on egg quality and larval viability. *Aquaculture* 155(1):45–54
- Vidal DE, Horne AJ (2003) Inheritance of mercury tolerance in the aquatic oligochaete *Tubifex tubifex*. *Environ Toxicol Chem* 22(9):2130–2135
- Waldock MJ, Holland DL (1978) Fatty acid composition of the triacylglycerols of the cypris larva of the barnacle *Balanus balanoides* during metamorphosis. *Mar Biol* 46(2):163–166
- Watanabe T (1993) Importance of docosahexaenoic acid in marine larval fish. *J World Aquac Soc* 24(2):152–161
- Weber JM (2011) Metabolic fuels: regulating fluxes to select mix. *J. Exp. Bio* 214(2):286–294

- Whyte JNC, Bourne N, Ginther NG (1990) Biochemical and energy changes during embryogenesis in the rock scallop *Crassadoma gigantea* Mar Biol 106:239-244
- Whyte JNC, Bourne N, Ginther NG (1991) Depletion of nutrient reserves during embryogenesis in the scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay). J Exp Mar Bio Ecol 149(1):67-79
- Whyte JNC, Bourne N, Ginther NG, Hodgson CA (1992) Compositional changes in the larva to juvenile development of the scallop *Crassadoma gigantea* (Gray). J Exp Mar Bio Ecol 163(1):13-29
- Whyte JNC, Bourne N, Hodgson CA (1989) Influence of algal diets on biochemical composition and energy reserves in *Patinopecten yessoensis* (Jay) larvae. Aquaculture 78(3):333-347
- Widdows J (1991) Physiological ecology of mussel larvae. Aquaculture 94(2):147-163
- Williams GA (1994) The relationship between shade and molluscan grazing in structuring communities on a moderately-exposed tropical rocky shore. J Exp Mar Biol Ecol 178(1):79-95
- Williams GA, Morrill D (1995) Habitat partitioning and thermal tolerance in a tropical limpet, *Cellana grata*. Mar Ecol Prog Ser 124(1):89-103
- Wilson SE, Steinberg DK, Chu F-LE, Bishop JKB (2010) Feeding ecology of mesopelagic zooplankton of the subtropical and subarctic North Pacific Ocean determined with fatty acid biomarkers. Deep Sea Res Part I Oceanogr Res Pap 57(10):1278-1294
- Yamamoto H, Shimizu K, Tachibana a, Fusetani N (1999) Roles of dopamine and serotonin in larval attachment of the barnacle, *Balanus amphitrite*. J Exp Zool 284(7):746-758









