

# Réponse à la sélection taille-dépendante anthropique et ses conséquences écologiques. Approche expérimentale avec le médaka (Oryzias latipes)

Clementine Sprenger, Clémentine Renneville

## ▶ To cite this version:

Clementine Sprenger, Clémentine Renneville. Réponse à la sélection taille-dépendante anthropique et ses conséquences écologiques. Approche expérimentale avec le médaka (Oryzias latipes). Ecologie, Environnement. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2016. Français. <NNT: 2016PA066691>. <tel-01597067>

# HAL Id: tel-01597067 https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01597067

Submitted on 28 Sep 2017

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.





# Université Pierre et Marie Curie

École doctorale 227 « Sciences de la Nature et de l'Homme » Institut d'Écologie et des Sciences de l'Environnement de Paris (iEES-Paris) Équipe Écologie et Évolution des Réseaux d'Interactions (EERI)

# Réponse à la sélection taille-dépendante anthropique et ses conséquences écologiques

Approche expérimentale avec le médaka (Oryzias latipes)

# Par Clémentine RENNEVILLE

# Thèse de doctorat en Écologie

Dirigée par Luc ABBADIE et Éric EDELINE

Présentée et soutenue publiquement le 25 novembre 2016

#### Devant un jury composé de :

Mme Marie-Joëlle ROCHET	Cadre de recherche, Ifremer, Nantes (France)	Rapportrice
M. Finn-Arne WELTZIEN	Professeur, Université Norvégienne des Sciences de la Vie, Oslo (Norvège)	Rapporteur
Mme Emmanuelle BAUDRY	Maître de conférences, Université Paris Sud, Orsay (France)	Examinatrice
Mme Sylvie DUFOUR	Directeur de recherche, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris (France)	Examinatrice
M. Dominique HIGUET	Professeur, Université Pierre et Marie Curie, Paris (France)	Examinateur
M. Éric EDELINE	Maître de conférences, Université Pierre et Marie Curie, Paris (France)	Directeur de thèse



A ma famille,

# Remerciements

Je remercie tout d'abord Luc Abbadie, directeur de l'institut d'Écologie et des Sciences de l'Environnement et Nicolas Loeuille de m'avoir accueilli respectivement dans l'institut iEES-Paris et dans l'équipe EERI. Je remercie la région Île-de-France d'avoir proposé une bourse DIM R2DS pour financer cette thèse et à l'Université Pierre et Marie Curie d'avoir également soutenue financièrement les expériences nécessaires à mes travaux.

Je tiens à remercier les membres de mon jury de thèse qui me font tous l'honneur de participer à l'évaluation et l'amélioration de mon travail lors de ce jour, au combien important, de la soutenance de thèse. Un grand merci à mes rapporteurs, **Finn-Arne Weltzien** et **Marie-Joëlle Rochet**, d'avoir accepté de relire en détails mes travaux, j'espère que cette lecture vous sera agréable. Merci à mes examinateurs **Emmanuelle Baudry**, **Sylvie Dufour et Dominique Higuet** qui me font également l'honneur de participer à ma soutenance.

Je souhaite ensuite remercier mon directeur de thèse **Eric Edeline**, sans qui cette grande aventure n'aurait pas été possible. Merci Eric de m'avoir proposé un formidable stage de master 2 et d'avoir choisi de me faire confiance pour poursuivre vers une thèse. Je te remercie sincèrement de m'avoir guidé et soutenu durant ces 3 années et demie. Je te remercie pour ta grande disponibilité et ton enthousiasme et j'espère que tu auras beaucoup d'autres thésards. Je souhaite également exprimer ma profonde gratitude à mes encadrants de thèse « non officiels », **Sylvie Dufour** et **Arnaud Le Rouzic**, pour tous les moments que nous avons passés ensemble et les opportunités que vous m'avez offertes. Un grand merci à toi Sylvie pour tes précieux conseils et ton écoute face à mes appréhensions, un immense merci pour m'avoir offert l'opportunité de participer à un workshop à Taïwan où j'ai eu la chance de rencontrer et de travailler avec des personnes formidables. Merci Arnaud pour toutes ces réunions où je t'ai « kidnappé » une journée entière, merci pour ta patience et tes encouragements. Je te remercie de m'avoir associée à ton projet de collaboration France-Norvège, j'ai participé grâce à toi à mon premier workshop international et cette collaboration a été aussi enrichissante d'un point de vue scientifique que humain.

Je souhaite aussi remercier les membres de mon comité de thèse, Frank Bourrat,

Jean-François Le Gaillard et Edwige Quillet qui m'ont encouragé et qui ont su m'apporter de précieux conseils tout au long de cette thèse.

Mes remerciements vont aussi à toutes les personnes qui m'ont accompagné lors des expérimentations, tant au CEREEP qu'à BOREA. Au CEREEP, je tiens particulièrement à remercier Alexis Millot et Simon Agostini sans qui l'élevage de médaka n'aurait certainement pas tenu plus d'une semaine. Merci pour votre soutien permanent et votre aide plus que précieuse ! J'ai énormément appris à vos côtés et ce fut un réel plaisir de partager ces nombreux moments à Foljuif avec vous. Merci à David Carmignac d'avoir toujours répondu présent pour me donner un coup de main, même lorsque mes demandes étaient peu anticipées et demandaient parfois d'être assez matinal ! Un grand merci aussi à toi de m'avoir initié à l'élevage de phasmes, un nouveau hobby est né chez moi. Je souhaite également remercier chaleureusement Beatriz Decencière, Amandine Hansart, Sarah Fiorini et Samuel Perret qui ont souvent participé aux « manip' medaka » en renfort et m'ont prodigué de précieux conseils. Je n'oublie pas non plus les autres membres du CEREEP avec qui j'ai partagé des repas très conviviaux ! Je souhaite également remercier l'équipe qui gère le site de Foljuif, particulièrement Géraldine Beaujard, car elle a fait de la station d'expérimentation un vrai petit coin de paradis ! Merci à Tom Van Dooren de nous avoir ravitaillé avec un succulent fromage de Hollande ! Merci d'avoir été un compagnon de repas à Foljuif certains soirs d'hiver où j'ai bien cru devoir manger seule, ainsi qu'un compagnon de pause devant l'animalerie! Merci également pour tes conseils et tes encouragements. Un petit mot aussi pour Gérard Lacroix qui a toujours des histoires formidables à nous raconter, c'est l'Homme aux mille vies !

Je souhaite également remercier l'équipe féminine de BOREA qui m'a ouverte en grand la porte de leur laboratoire, malgré mes venues éclairs. Un grand merci à **Sylvie Balloche**, **Anne-Gaëlle Lafont, Françoise Gonnet, Karine Rousseau** et aux autres membres de l'équipe 2. Je souhaite adresser plus particulièrement mes sincères remerciements à **Gersende Maugars** qui m'a initié à la technique de PCR quantitative, je te remercie de m'avoir accordé du temps, autant sur le plan scientifique que humain, et d'avoir été aussi bienveillante avec moi.

Je ne peux qu'exprimer ma profonde gratitude aux stagiaires avec qui j'ai eu le plaisir de travailler, ceux qui ont choisi de me faire confiance et qui m'ont accompagné, à pied, à roller, ou à trottinette jusqu'à Foljuif! Merci à Yohann Chauvier, Alexandra Dufau, Morgane Le Cocq Julien Hirschinger, Alice Lamoureux, Alexandre Macé et Zoé Plaisant-Delaplace. Je remercie également les stagiaires « non médaka » qui m'ont prêté main forte et avec qui j'ai partagé de bons moments lorsque j'ai dû dormir à la station, notamment Fanny Grossi, Morgane Laigneau, Céline Albert, Nicolas Flores, Angevine Masson, Tony Massan, Clémence Mouza, Mélanie et Cécile et bien d'autres encore que je ne cite pas mais à qui j'adresse mes sincères remerciements.

Je ne peux pas remercier les personnes qui ont participé à la « manip médaka » sans adresser quelques mots pour **mes petits poissons** « mort pour la science ». J'espère malgré tout que leur courte vie à l'animalerie aura été aussi agréable que possible... J'ai maintenant une profonde reconnaissance envers tous les poissons de cette Terre !

Je souhaite également à adresser mes remerciements à mes collègues d'enseignements de biologie végétale de l'université Paris Diderot, notamment Vincent Chassany, Anouck Diet, Patricia Genet, Céline Sorin, Sophie Filleur et Pierre-Antoine Précigout. Merci à Jean-Luc Assinare et Cécile Lautric de nous fournir une aide inestimable à la préparation des salles. J'ai aussi une pensée pour Florence Richard qui nous a quitté trop précocement et qui m'avait offert l'opportunité de réaliser mes premiers enseignements à l'université de Versailles.

Je tiens désormais à écrire quelques phrases concernant mes collègues de l'iEES-Paris avec qui j'ai passé de bons moments. En premier lieu je tiens à remercier **tous les membres**, **permanents et non permanents, de l'équipe EERI**, je me suis sentie parfaitement à l'aise dans cette équipe qui essaie au maximum de partager scientifiquement et humainement. Merci aussi aux équipes administrative et de communication qui sont vraiment très compréhensives avec nous ! Merci donc à Johana Azzi, Carole Bousquet, Clarisse Coquemont, Catherine Muneghina, Paola Paradisi, Isabelle André et Julie Legoupi. Je tiens également à remercier les collègues de « pots chez Youssef » avec lesquels on décompressait à l'aide d'un petit verre lorsque nous logions à l'ENS : Ambre David, Benoît Geslin, Jean-Christophe Lata, Stéphane Loisel, Imen Louati, Jacques Mériguet, Henri de Parseval, Aleksandar Rankovic, Alix Sauve et Elisa Thébault. Initiés plus récemment, je remercie aussi tous les participants des « pots du vendredi » qui permettent d'assurer au moins un moment de détente par semaine, notamment Loic Prosnier, Gabrielle Ringot, Lise Ropars et Eric Tromeur. Merci aussi à mes joyeux camarades de cantine Julien Gasparini et Adrien Frantz qui ont toujours le mot pour rire, de vrais rayons de soleil ! Je remercie bien entendu mes compères du bureau 724, Korinna Alhoff, Andeaz Dupoué, Marta Gallardo Ruiz, Rémi Josserand, Pierre Quévreux, Aurore Picot et Kejun Zou avec qui j'ai partagé de chaleureux moments dans cette pièce mal isolée ! Merci également à mes collègues doctorants rue Cuvier Aurora Campo et Mitch Flemming qui ont supporté mon déplorable accent anglais et mon manque de vocabulaire notoire !

Je tiens aussi à remercier Josefa Bleu avec qui j'ai partagé les pauses de 16h et la plongée, merci Josefa pour ta zénitude permanente très agréable. J'ai hâte d'aller te rendre visite à Strasbourg ! Je souhaite aussi sincèrement remercier Anaïs Bompard, Ewen Georgelin, Floriane Flacher, Marie Vaugoyau, Marion Chatelain et Thomas Brom qui sont devenu au fil du temps plus que des collègues (enfin pour moi au moins :-) ). Merci d'avoir continué à m'inviter même si je suis souvent impossible à joindre... Merci Floriane pour ton sourire rayonnant qui réconforte à coup sûr et ta compréhension permanente de mes émotions perturbées ! J'ai adoré nos soirées coutures et j'espère que l'on pourra bientôt faire un petit pantalon à Super Mouton qui va visiter la Pologne ces prochaines années (faudrait pas qu'il ait froid le pauvre) ! Un immense merci à toi et à Marion de m'avoir épaulé dans la dernière ligne droite ! Merci à Marie et Marion d'avoir été « chefs de troupe » et de nous avoir proposé des sorties très sympa régulièrement ! Pour moi qui suis toujours partagée entre l'envie de voir mes amis et la flemme de sortir de chez moi, c'est une aubaine de vous avoir auprès de moi pour me motiver ! Thomas, joyeux compagnon de cantine mais aussi soutien permanent que ça aille bien...ou pas, merci ! Merci d'être un si bon ami, merci pour tes messages vocaux WhatsApp :-). Bref, merci à vous tous d'être comme vous êtes, je vous aime et vive le chaton club !

Je souhaite également remercier mes amis « pré-thèse » pour leur compréhension et les bouffés d'air frais qu'ils m'ont apporté lors de nos rares mais ô combien importantes retrouvailles ! Merci à Coralie, Tom, Christine, Christophe, Estelle, Thomas, Maureen, Ludovic, Hélène, Martial, Amélie, Ingrid, et Camille « les Northiens » et Prescilla, Anthony, Athénaïs, Thomas, Lionel, Aurore Zoé, Adrian et les bébés du Sud ! Un grand merci à Eric qui m'a apporté un soutien sans faille, je ne sais pas comment t'exprimer ma profonde gratitude. J'espère que l'on restera en contact même lorsque j'aurais quitté l'université ! Un mot spécial pour ma grande amie **Silvia** qui fait partie de tous les groupes puisque nous nous sommes rencontrés pendant le master, nous avons partagé les hauts et les bas de la thèse en parallèle et nous avons collaboré au maintien d'un super séminaire de réflexion sur l'Écologie ! Merci ma belle italienne pour nos rigolades (parfois nerveuses), ton soutien et tes encouragements ! À notre futur voyage post-thèse !

Je ne peux pas remercier toutes les personnes qui ont contribué à cette thèse sans adresser quelques lignes à ma famille. Je souhaite exprimer ma profonde gratitude en tout premier lieu à mes parents, qui me choient, me soutiennent en permanence et grâce à qui j'ai pu m'élancer sur le chemin des études... longues, merci ! Merci maman d'être toujours là pour m'emmener faire du shopping et me faire relativiser les « tracas de la vie » ! Merci à mes grands-parents « des chats » qui m'ont toujours témoigné beaucoup d'affections, même si je suis un rat dévorant ! Merci pour vos ravitaillements en confiture de groseilles, le ramassage en vaut la chandelle ! Un grand merci s'adresse aussi à mamy Annick et mes grands-parents de Marennes, que je vois moins souvent mais à qui je pense aussi, merci pour vos cartes que je reçois toujours avec extrêmement de plaisir ! Merci aussi à mes beaux-parents pour leur chaleureux accueil dans la famille, merci pour votre Mourgues-Oasis, ô combien agréable lorsque l'on quitte Paris pour venir vous voir ! Merci Gitti pour ton écoute et tes précieux conseils, je n'aurais pas pu rêver meilleure belle famille ! Maintenant au tour des frangins, frangines ! Victor et Violette même si je ne vous vois pas aussi souvent que je le souhaiterais c'est toujours un vrai bonheur de vous voir ! Promis je testerais Minecraft après la soutenance, à condition que vous veniez à Saint-Mandé pour visiter Disney ! Jessica je te souhaite tout le bonheur du monde et je te remercie d'avoir autant la pêche, une vraie pile ! Jonas je te souhaite un super tour du monde en parapente et j'espère que l'on pourra bientôt faire une plongée ensemble, merci d'animer nos repas en lançant des débats, héhé !

Enfin **Florian**, ma moitié, je ne pense pas trouver les mots justes pour t'exprimer toute ma gratitude. Je te remercie du fond du cœur de toujours croire en moi, de m'accompagner dans les bons moments et les moins bons, que je sois surexcitée ou proche de la loque humaine ! Merci pour ton optimisme permanent, ta douceur et ta zénitude ! Tu sais me donner confiance et m'apaiser, la vie est plus douce à tes côtés ! Mille mercis d'avoir été mon compagnon pendant ces 10 dernières années et bien plus j'espère en tant que mari maintenant ! J'ai vraiment hâte de partir en voyage de noce, peu importe où nous irons je suis convaincue que cela sera fantastique !



# Avant-Propos

Dans le cadre de mon contrat doctoral j'ai eu l'opportunité de participer à des programmes scientifiques internationaux et de présenter mes travaux lors de conférences. Par ailleurs j'ai effectué des heures d'enseignements, ponctuellement à l'ENS et à l'université de Versailles – Saint-Quentin-en-Yvelines, puis régulièrement dans le cadre d'une mission doctorale sur deux ans à l'université de Paris Diderot. J'ai aussi été amenée à travailler avec des étudiants en stage. Je détaille dans cette partie les présentations, les enseignements et les sujets de stage qui ont été réalisés dans le cadre de cette thèse.

### Participations à des programmes internationaux :

- Programme « Aurora 2015 Quantitative genetics workshop » Norwegian University of Science and Technology, Norvège et Université de Bordeaux, France (10j)
- Programme « Summer 2016 Global Networking Talent, International Program » National Taiwan Ocean University, Taiwan (10j)

### Participations à des conférences nationales :

• 36th Conférence du Petit Pois Déridé – Université Paris Sud, 2014, Oral

Sélection artificielle expérimentale : étude du rôle de l'évolution rapide des traits d'histoire de vie du médaka (Oryzias latipes)

- Débat scientifique proposé par la région Île-de-France Paris, 2014, <u>Oral</u>
  L'écologie expérimentale pour étudier les effets écologiques de la perte de biodiversité
- Rencontre annuelle du laboratoire de Biologie des ORganismes et des Écosystèmes

Aquatiques – Université de Caen, Caen, 2014, Oral

La perte de biodiversité : le rôle de l'évolution rapide des traits d'histoire de vie du médaka (Oryzias latipes)

### Participations à des conférences internationales :

 Development, reproduction and evolution in marine organisms. Summer meeting.– NTOU, Keelung, 2016, <u>Oral</u>

Demographic consequences of over-harversting : lessons from medaka (Oryzias latipes) size-selection experiment

• 3rd Young Natural History scientists' meeting – MNHN, Paris, 2016, Poster

How much size matters in trophic cascades ?

• Joint BES/SFE Annual meeting – Grand Palais, Lille, 2015, Oral

Predator body size and shape as a determinant of the strength of a trophic cascade

• 1st Young Natural History scientists' meeting – MNHN Paris, 2014, Oral

Body size and shape as determinants of the strength of a trophic cascade

### **Enseignements :**

- Mission doctorale d'enseignements à l'université Paris Diderot (64h x 2 ans)
  Biologie et physiologie des plantes, niveau licence, Travaux pratiques et dirigés
- Enseignements ponctuels à l'université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines (12h)
  *Biologie animale, niveau licence, Travaux pratiques*

• Enseignements ponctuels à l'École Normale Supérieure (25h)

Écologie, niveau licence, Travaux pratiques et dirigés

## **Encadrements :**

• Yohann Chauvier, étudiant de licence 3 à l'université d'Orléans. 1 mois. Poster.

Sujet : « La sélection sur la taille corporelle chez le médaka »

 Julien Hirschinger, étudiant en 3<sup>ème</sup> année d'école Vétérinaire de Toulouse. 2 mois. Oral.

Sujet : « Réponse à la sélection artificielle sur la taille corporelle chez le médaka »

 Alice Lamoureux, étudiante de master 1 à l'université Pierre et Marie Curie. 2 mois. Rapport et Oral.

<u>Sujet</u> : « Réponse à la sélection taille-dépendante chez le médaka :utilisation du modèle animal »

 Alexandre Macé, étudiant en 2<sup>ème</sup> année d'école d'agronomie de Montpellier. 2 mois. Rapport.

<u>Sujet</u> : Analyse morphométrique de la réponse à la sélection taille-dépendante chez le médaka »

 Zoé Plaisant-Delaplace, étudiante de licence 3 à l'université Pierre et Marie Curie. 1 mois. Rapport.

<u>Sujet</u> : « Analyse de la réponse corrélée de la croissance à la sélection tailledépendante chez le médaka »

# Table des matières

Remerciements	5
Avant-Propos	.13
Abréviations	.19
Chapitre 1 : Introduction générale	.21
1.1. La perte de biodiversité	25
1.1.1. Définition de la biodiversité	.25
1.1.2. L'Érosion de la biodiversité	.26
1.2. Les facteurs d'érosion de la biodiversité	28
1.2.1. L'exploitation des ressources naturelles	.30
1.2.2. L'altération des habitats	.32
1.2.3. Le changement climatique	.32
1.3. L'adaptation des populations menacées par les pressions anthropiques	.33
1.3.1. La notion de trait phénotypique	.33
1.3.2. Le mécanisme d'adaptation	.34
1.3.3. L'adaptation à la pression de sélection de pêche	.38
1.4. Les conséquences d'une réponse adaptative pour les populations	.44
1.5. Les conséquences écologiques de l'érosion de biodiversité	.47
1.4.1. La diversité des interactions biotiques	47
1.4.2. Des effets trait-dépendant et densité-dépendant dans les réseaux d'interactions	.48
1.6. La biodiversité et les sociétés humaines	.54
1.7. Les objectifs et la structure de la thèse	.57
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	.59
2.1. Les apports de la démarche expérimentale	63
2.1.1. Les différents types d'études en écologie	.63
2.1.2. Le principe et les intérêts de la démarche expérimentale	.63
2.1.3. L'étude expérimentale des mécanismes d'adaptations à la pêche	.64

Table des matières | 17

2.2. Le modèle biologique	68
2.2.1. Caractéristiques du médaka	68
2.2.2. Choix du médaka	71
2.3. Présentation des protocoles expérimentaux	72
2.3.1. Provenance des médakas sauvages	72
2.3.2. L'expérience de cascade trophique	73
2.3.3. L'expérience de sélection artificielle sur la taille corporelle	76
Chapitre 3 : Cascade trophique	89
3.1. Article : « Morphological drivers of trophic cascades »	92
Chapitre 4 : Sélection artificielle sur la taille corporelle	145
4.1. Article : « Direction specific phenotypic response to size – truncative selection	on »148
Chapitre 5 : Discussion et perspective	193
5.1. Discussion	197
5.1.1. Conséquences écologiques	197
5.1.2. Conséquences évolutives	199
5.2. Perspective	204
Références bibliographiques	209

# Abréviations

Les abréviations utilisées le plus couramment dans cette thèse sont regroupées ici. Par soucis d'uniformité, il a été choisi d'utiliser les acronymes anglais dans tous le manuscrit car ce sont ceux employés dans les articles.

cDNA : Complementary Deoxyribonucleic Acid; acide désoxyribonucléique complémentaire

**C line** : Control line (random harvest); lignée où les individus reproducteurs sont choisi aléatoirement parmi les matures à 75 dph (sélection aléatoire sur la sdl, voir ci-dessous)

dph : days post hatch ; âge en jour depuis l'éclosion

FSH : Follicule-stimulating hormone ; hormone folliculo-stimulante

GH : Growth hormone ; hormone de croissance

**H line** : High line (small-size harvest) ; lignée où les individus reproducteurs sont les plus grands parmi les matures à 75 dph (sélection positive sur la sdl)

LH : Luteinizing hormone ; hormone lutéinisante

L line : Low line (large-size harvest) ; lignée où les individus reproducteurs sont les plus petits parmi les matures à 75 dph (sélection négative sur la sdl)

mRNA : Messenger Ribonucleic Acide ; acide ribonucléique messager

MS222 : Tricaine methane sulfonate ; le tricaine methanesulfonate est un produit anesthésiant.

PCR : Polymerase chain reaction ; réaction en chaîne par polymérase

RNA : Ribonucleic Acide ; acide ribonucléique

sdl : standard length ; longueur standard des individus mesurée du museau à l'insertion de la nageoire caudale

Chapitre 1 : Introduction générale

Chapitre 1 : Introduction générale | 21

### Résumé du chapitre 1

L'objectif de ce chapitre est d'introduire la problématique générale, les objectifs spécifiques de la thèse ainsi que les concepts clés. Le but de la thèse était d'étudier expérimentalement les implications écologiques et évolutives de la perte rapide de biodiversité. Dans une première partie, la notion de biodiversité et son état actuel sont abordés. Dans une seconde partie, les principales pressions anthropiques qui sont responsables de l'érosion de la biodiversité (en terme d'abondance mais aussi de trait phénotypique) sont détaillées. Dans une troisième partie nous expliquons comment les pressions de sélection humaines peuvent engendrer au-delà d'une diminution des effectifs, des réponses adaptatives dans les populations naturelles. Ensuite, nous présentons comment ces adaptations pourraient, à long terme, avoir des effets néfastes pour les populations. En effet, le premier objectif spécifique de la thèse a été de mieux comprendre les mécanismes de réponse adaptative des populations naturelles aux pressions anthropiques. Dans une cinquième partie nous présentons les conséquences de la perte de biodiversité (en terme d'abondance et de trait phénotypique) au niveau des écosystèmes. Cette partie permet de présenter le second objectif spécifique de la thèse qui a été de comparer les effets traits-dépendants et densité-dépendants qui peuvent modifier l'intensité des cascades trophiques. Dans une sixième partie nous faisons le lien entre la perte de biodiversité et son implication pour les sociétés humaines. La dernière partie de ce chapitre présente les sousobjectifs de chacune des expériences réalisées lors de ce travail de thèse et la structure de la suite du manuscrit.

# **Chapitre 1 : Introduction générale**

## 1.1. La perte de biodiversité

### 1.1.1. Définition de la biodiversité

Le terme « biodiversité », issu de la contraction de « diversité biologique » a été proposé pour la première fois par Edward O. Wilson en 1984. Il a été introduit dans le vocabulaire scientifique à la fin du XX<sup>ème</sup> siècle par des naturalistes qui s'inquiétaient de la dégradation rapide des milieux naturels, et qui souhaitaient que les sociétés humaines s'intéressent à ce problème environnemental mondial (Lévêque and Mounolou 2008). En 1992, le premier sommet de la Terre voit le jour à Rio de Janeiro. Lors de cette conférence des Nations Unis, une convention sur la préservation de la diversité biologique définit la biodiversité comme : « la variabilité des organismes vivants de toute origine y compris, entre autres, les écosystèmes terrestres, marins, et autres systèmes aquatiques et les complexes écologiques dont ils font partie ; cela comprend la diversité au sein des espèces et entre espèces ainsi que celles des écosystèmes » (Organisation des Nations Unies 1992). En d'autres termes, la biodiversité se définit comme la variabilité du vivant à tous ses niveaux d'organisation, au niveau des génomes, des phénotypes, des espèces ou encore des écosystèmes. À chacun de ces niveaux, la biodiversité possède des composantes à la fois quantitative et qualitative. Actuellement, le niveau d'organisation le plus souvent étudié est l'espèce (i.e. la diversité spécifique) qui peutêtre décrite quantitativement, par le nombre d'espèces (richesse spécifique, e.g. indice de Shanon-Wiener), ou qualitativement, par leur abondance relative (composition spécifique, e.g. indice d'équitabilité). Il existe d'autres définitions de la biodiversité, plus vastes que celle proposée par la première convention sur la diversité biologique. Ainsi, Robert Barbault propose d'inclure dans la définition, la diversité des interactions biotiques (e.g. prédation, mutualisme). Les interactions biotiques entre populations modulent l'abondance et les caractéristiques biologiques de chacune, elles façonnent donc la biodiversité à ces différents niveaux (voir section 1.5.). L'intégration de ces interactions dans la définition de la biodiversité permet alors de prendre en compte son aspect dynamique. La biodiversité peutêtre qualifiée de véritable « tissu vivant de la planète » et chaque accroc qui lui est fait peut faire filer le tissu entier (Barbault 2008).

Dans le cadre de cette thèse je me suis plus particulièrement intéressée aux conséquences évolutives et écologiques de l'érosion de la diversité phénotypique.

# 1.1.2. L'Érosion de la biodiversité

À partir des années 1990 un grand nombre d'études reportent une érosion massive de la biodiversité mesurée à l'échelle des espèces (e.g. Ehrlich and Wilson 1991; Pimm et al. 1995). Cette crise de la biodiversité est effectivement caractérisée par des taux d'extinction très importants, et des vitesses d'extinction très supérieures à celles enregistrées lors des précédentes crises d'extinctions (Butchart et al. 2010; Ceballos et al. 2015). Gerardo Ceballos et ses collaborateurs ont publié une étude en 2015 qui révèle que le taux d'extinction actuel des espèces vertébrées serait cent fois supérieur à celui des cinq précédentes crises d'extinction. 10% à 50% des espèces de mammifères, d'oiseaux, d'amphibiens et de plantes seraient actuellement menacées d'extinction (Millennium Ecosystem Assessment 2005). En 2010, Stuart H. M. Butchart et ses collaborateurs ont regroupé les tendances temporelles de 24 indicateurs du statut de la biodiversité à ces différentes échelles afin d'estimer la vitesse d'érosion de la biodiversité. Ces indicateurs regroupent des mesures de diversité biologique des populations (e.g. « Waterbird Population Status Index »), des espèces (e.g. « Living Planet Index »; voir Figure 1) et des écosystèmes (e.g. comme le « Water Quality Index »). Dans cette étude les auteurs ont montré que la diminution de la biodiversité est continue depuis les années 1970.

Cette crise actuelle de la biodiversité serait principalement liée à l'expansion de l'espèce humaine (Pimm et al. 1995; Barnosky et al. 2004). L'augmentation de la population humaine mondiale est responsable d'une augmentation de l'urbanisation, de l'exploitation des ressources alimentaires et de la destruction des habitats liée à la conversion des terres (**voir section 1.2.**) qui menace les autres espèces. Certains auteurs emploient alors le terme de crise de l'anthropocène, du fait de son origine anthropique, pour décrire cette érosion majeure de la biodiversité (e.g. Steffen et al. 2007; Zalasiewicz et al. 2010). En outre, les prédictions font craindre une accélération du déclin de cette biodiversité. En effet, les pressions réalisées par l'Homme sur la biodiversité vont en augmentant, et de récentes études alertent quant à l'avenir de la biosphère (e.g. Barnosky et al. 2012).

Un des points majeurs de cette érosion de la biodiversité est qu'elle est caractérisée par la perte non aléatoire des espèces de grandes tailles corporelles (McKinney 1997; Purvis et al. 2000; Lomolino et al. 2001; Smith et al. 2003; Ray et al. 2013) qui seraient plus sensibles aux activités anthropiques (Pimm et al. 1988; Duffy 2003). Par ailleurs, la diversité phénotypique des populations composant ces espèces menacées d'extinction par les activités anthropiques serait également modifiées (Chapin III et al. 2000; Palumbi 2001) suggérant qu'avant l'extinction ces espèces seraient capables de s'adapter.

Dans ce contexte, on peut se demander quelles sont les implications évolutives et écologiques de la perte rapide et non aléatoire de biodiversité.



Figure 1: Evolution temporelle de l'Indice Planète Vivante global à partir de 1970 (tiré de World Wild Fundation 2014). L'IPV global (pour les espèces terrestres, d'eaux douces et marines) montre un déclin de 52 % entre 1970 et 2010, ce qui signifie qu'en moyenne, les populations d'espèces de vertébrés ont diminué de moitié en 40 ans. Ce chiffre est basé sur les tendances observées chez 10 380 populations de 3 041 espèces de mammifères, d'oiseaux, de reptiles, d'amphibiens, et de poissons. La ligne blanche marque l'évolution de la valeur de l'indice au cours du temps, l'aire bleutée délimite l'intervalle de confiance à 95 %.

Temporal trend of the global Living Planet Index since 1970 (from World Wild Fundation 2014). Global LPI (terrestrial, freshwater and marine species) recorded a decline of 52% between 1970 and 2010, which means that on average, populations of vertebrate species are approximately half abundant than 40 years ago. This figure is based on trends of 10 380 populations of 3 041 species of mammals, birds, reptiles, amphibians, and fish. The white line marks the index evolution over time, the blue area delimits the 95% confidence interval.

# 1.2. Les facteurs d'érosion de la biodiversité

Les principaux facteurs d'érosion de la biodiversité ont été définis par l'évaluation des écosystèmes pour le millénaire, le MEA (Millennium Ecosystem Assessment 2005) et peuvent être regroupés sous le terme de « changements globaux » (Figure 2 ; voir aussi Figure 10). Ces facteurs anthropiques sont (1) la surexploitation des ressources vivantes (e.g. in Rosser and Mainka 2002), (2) l'altération des habitats naturels (e.g. in Fischer and Lindenmayer 2007), (3) le changement climatique (e.g. in Hughes 2000), (4) la pollution (e.g. in Reznick and Ghalambor 2001) et (5) l'introduction d'espèces (e.g. Lövei 1997). Certains de ces facteurs anthropiques de perte de biodiversité ont un caractère non aléatoire et peuvent mener à l'extinction ciblée des espèces de grande taille corporelle (Smith et al. 2003; Ray et al. 2013). En parallèle, un nombre croissant d'études ont montré qu'avant même l'extinction de ces espèces menacées, leurs traits phénotypiques (e.g. traits morphologiques, comportementaux, physiologiques...) pouvaient être modifiés par les activités anthropiques (Palumbi 2001; Bradshaw and Holzapfel 2006; Carroll et al. 2007; Allendorf and Hard 2009; Darimont et al. 2009). Par ailleurs les changements de traits ayant pour origine une modification de leur environnement par les activités humaines seraient présents dans tous les écosystèmes aquatiques et terrestres, sur tous les continents excepté l'Antarctique (Figure 3 ; Palkovacs et al. 2012). Le caractère non aléatoire de ces facteurs est détaillé dans la suite de cette section.



Figure 2: Représentation imagée des principaux facteurs anthropiques d'érosion de la biodiversité (tiré de Barnosky et al. 2012). Altération des habitats (a : déforestation et c : changement d'occupation des sols, en marron sur la carte), Surexploitation (b : chasse), Pollutions (d : eutrophisation des océans, e : pollution atmosphérique), Changement climatique (f : fonte des glaciers, h : fonte de la banquise), Introduction d'espèce (g).

Pictorial presentation of the major anthropogenic factors of biodiversity erosion (from Barnosky et al. 2012). Habitat alteration (a: deforestation and c: land use change, in brown on the map), overexploitation (b: hunting), pollutions (d : eutrophication, e: atmospheric pollution), climate change (f: melting glaciers and h: melting ice), species introduction (g).



Figure 3: Représentation géographique de l'ubiquité des changements de traits biologiques induits par les activités humaines (tiré de Palkovacs et al. 2012). Chaque symbole représente le facteur anthropique à l'origine du changement de traits.

Geographical representation of the ubiquity of biological traits changes induced by human activities (from Palkovacs et al. 2012). Each symbol represents the anthropogenic factor behind the induced change in biological traits.

### 1.2.1. L'exploitation des ressources naturelles

La surexploitation est une des causes majeures et directes de perte sélective des espèces de grande taille et des grands individus au sein des espèces (Fenberg and Roy 2007; Hutchings and Fraser 2007). Les grandes espèces et les grands individus présentent en effet un intérêt économique évident pour l'Homme (Zimmermann et al. 2011) qui aura tendance à les chasser (e.g. Milner et al. 2007), les pêcher (e.g. Jennings et al. 1998; Law 2000) et les récolter préférentiellement (e.g. Law and Salick 2005). L'otarie du Japon (*Zalophus japonicus*) par exemple, fait partie des espèces de grande taille corporelle qui auraient été décimées par l'exploitation de leur fourrure (Sakahira and Niimi 2007). En milieu marin, le niveau trophique moyen des espèces pêchées par le passé et n'a cessé de diminuer depuis 1950 (Pauly et al. 1998). Cette étude montre bien le caractère non aléatoire de la perte de biodiversité marine.

Par ailleurs, comme la taille corporelle est positivement corrélée à l'âge, l'augmentation du taux de mortalité provoqué par l'exploitation diminue la proportion des individus grands et âgés dans les populations. D'après Chris T. Darimont et ses collaborateurs (2009) les changements phénotypiques induits par l'exploitation des populations naturelles seraient trois fois plus rapide que ceux induit naturellement et plus rapide également que ceux induits par d'autres types d'activités anthropiques. De nombreux exemples sont documentés en milieu terrestre (Coltman et al. 2003; Jerozolimski and Peres 2003; Law and Salick 2005) et aquatique (Law 2000; Edeline et al. 2007; Hutchings and Fraser 2007). Par exemple la chasse préférentielle pendant plusieurs années des individus mâles ayant les plus grandes cornes d'une population de mouflons (*Ovis canadensis*) a significativement réduit la taille des cornes des individus mâles mais aussi la masse corporelle des individus de la population (**Figure 4**; Coltman et al. 2003).



Figure 4: Evolution temporelle entre 1970 et 2002 de (a) la masse corporelle moyenne (kg), (b) la longueur moyenne des cornes des mouflons mâles de 4 ans et (c) de la taille de la population (nombre de mouflons entre 2 et 17 ans) (tiré de Coltman et al. 2003).

Temporal evolution between 1970 and 2002 of (a) the mean body mass (kg), (b) the mean horns length of sheep males aged 4 and (c) the population size (number of sheep between 2 and 17 years) (from Coltman et al. 2003).

#### 1.2.2. L'altération des habitats

L'altération des habitats peut également concourir à accélérer la perte d'espèces de grande taille corporelle car ces dernières possèdent des caractéristiques qui les rendent particulièrement sensibles à cette pression anthropique (Pimm et al. 1988). Les espèces de grande taille corporelle ont souvent des besoins alimentaires importants, associés à des territoires d'alimentation plus grands que d'autres (Fischer and Lindenmayer 2007). Elles sont également souvent caractérisées par un faible taux de reproduction (Van Allen et al. 2012). Par conséquent, la perte ou l'altération de leur habitat va plus fortement les impacter. Par exemple le grand canard d'Oustalet (*Anas oustaleti*) qui vivait dans les îles Mariannes du Pacifique a complètement disparu suite à l'altération de son habitat. Les marais dans lesquels il vivait ont été drainés puis convertis pour une utilisation humaine (Young et al. 1996). L'altération des habitats, en particulier la fragmentation peut également favoriser une adaptation vers des tailles corporelles réduites, pour des espèces de grande taille corporelle chez qui la croissance serait limitée par un manque de ressources (van Valen 1973; Lomolino 2005). Ce patron d'adaptation a été reporté dans plusieurs cas pour des vertébrés, allant des mammifères (Foster 1964; Meiri et al. 2005) aux squamates (Boback and Guyer 2003).

### 1.2.3. Le changement climatique

Le réchauffement climatique serait également responsable d'une réduction des tailles corporelles moyennes (Hunt and Roy 2006; Daufresne et al. 2009; Van Buskirk et al. 2010; Gardner et al. 2011; Sheridan and Bickford 2011; Edeline et al. 2013), particulièrement bien illustré en milieu aquatique. D'après les théories métaboliques de l'écologie (Brown et al. 2004), l'énergie accumulée par un individu (i.e. la différence entre ce que l'individu ingère et ce qu'il dépense pour se maintenir en vie) augmenterait plus vite avec l'augmentation des températures chez les petits individus que chez les grands. Ce mécanisme pourrait rendre les petits individus plus compétitifs que les grands individus pour l'exploitation des ressources. L'étude statistique mené par Eric Edeline et ses collaborateurs (2013) corrobore cette prédiction et met en évidence le rôle indirect du réchauffement climatique sur la réduction des tailles corporelles moyennes des poissons d'eau douce.

Par ailleurs des études suggèrent que **l'acidification des océans** pourrait également réduire la taille corporelle moyenne des individus (Kelly et al. 2013; Kroeker et al. 2014; Sunday et al. 2014; Garilli et al. 2015; Ou et al. 2015). Les études dans ce domaine sont

encore préliminaires, néanmoins Morgan Kelly et ses collaborateurs (2013) ont montré que le taux de croissance somatique d'oursins (*Strongylocentrotus purpuratus*) pourrait évoluer vers des taux de croissance lents en réponse à une augmentation de l'acidité des eaux.

Pour résumer, cette section montre que les facteurs anthropiques érodent non aléatoirement la biodiversité et menacent d'extinction plus particulièrement les espèces de grande taille corporelle. Néanmoins ces espèces pourraient s'adapter en diminuant leur taille corporelle moyenne en réponse aux pressions anthropiques (i.e. traits phénotypiques modifiés). Comme les pressions anthropiques agissent simultanément, elles peuvent interagir et accélérer ou ralentir l'adaptation. Si leurs interactions sont synergiques, le déclin de la taille corporelle moyenne des espèces de grande taille corporelle pourrait être accéléré. Quelques études récentes se sont intéressées à ces synergies (e.g. Genner et al. 2009; Shackell et al. 2010; Binzer et al. 2015).

Dans ce contexte, les mécanismes de réponse adaptative aux pressions anthropiques sur la taille corporelle et leurs conséquences à l'échelle des populations (partie 1.3. et 1.4., cf chapitre 4) et des écosystèmes (partie 1.5., cf. chapitre 3) sont à élucider afin de pouvoir mieux prédire les conséquences de l'érosion de la biodiversité et de la limiter.

# **1.3. L'adaptation des populations menacées par les pressions anthropiques**

### 1.3.1. La notion de trait phénotypique

Les changements adaptatifs qui peuvent provenir d'une réponse à une des pressions anthropiques précédemment présentées se produisent localement au sein d'une population d'une espèce, au niveau des traits phénotypiques des individus qui la composent. Chaque individu est caractérisé par un phénotype, constitué d'un ensemble de traits phénotypiques, qui le définit. Le phénotype exprimé dépend des potentialités du génotype, éventuellement modulées par les interactions avec l'environnement. Autrement dit, la valeur d'un trait phénotypique est déterminée par le génotype et le contexte environnemental (Figure 5 ; Tirard et al. 2012). Ces traits phénotypiques peuvent-être morphologiques (e.g. taille, forme), physiologiques (e.g. masse corporelle, taux de croissance, taux d'hormones de stress) ou

comportementaux (e.g. agressivité). Les traits d'histoire de vie représentent les traits phénotypiques impliqués dans le cycle de vie de l'individu : la fécondité, la taille à la naissance, l'âge et la taille à maturité, la sénescence en sont les principaux exemples. Ce sont les traits impliqués dans la survie et la reproduction d'un individu, dans sa fitness, qui peuvent être source d'adaptation d'une population à des pressions de sélection.



Figure 5: Relation entre le génotype et le phénotype d'un individu. Le phénotype résulte de l'expression des potentialités du génotype et du contexte environnemental.

Relationship between genotype and phenotype of an individual. The phenotype results from the expression of the genotype potentialities and from environmental context.

### 1.3.2. Le mécanisme d'adaptation

L'adaptation peut se définir comme la modification d'un trait phénotypique dans une population sous l'effet de la sélection naturelle, la nouvelle valeur du trait améliorant la fitness des individus qui en sont porteurs (Tirard et al. 2012). Le terme d'adaptation peut désigner le processus d'évolution ou le résultat du processus. L'adaptation d'une population peut se définir comme l'évolution, en moyenne, des individus d'une population vers les phénotypes qui s'ajustent au mieux à l'environnement considéré.

La sélection naturelle est une force évolutive qui tend à optimiser l'adaptation des populations à leur environnement en opérant un tri des individus sur la base de leur phénotype. Les individus les plus adaptés sont ceux qui ont un phénotype qui leur confère un avantage sélectif par rapport aux autres individus de la même population (Danchin et al. 2005). En d'autres termes, ces individus sont caractérisés par un phénotype qui les rends plus aptes à survivre et à se reproduire que les autres. Ce sont ces individus, sélectionnés, qui contribuent le plus au pool génétique de la génération suivante. Ce tri par la sélection naturelle modifie la fréquence des allèles impliqués dans la construction du phénotype au cours des générations. Le mécanisme de sélection naturelle d'un trait phénotypique s'opère lorsque 3 conditions sont réunies : le trait doit être variable entre les individus d'une population, il doit être impliqué dans la survie et ou la reproduction de l'individu et il doit être héritable (i.e. transmissible à la descendance). Ainsi les variations héritables qui confèrent un avantage sélectif sont davantage

transmises à la génération suivante que les variations moins avantageuses. Au fil des générations, dans un environnement donné, les fréquences alléliques se modifient, les allèles codants pour les caractères avantageux (i.e. les valeurs des traits les plus avantageux) se répandent, et ceux codant pour des versions moins avantageuses diminuent ou disparaissent. Il existe différents types de sélection. La sélection peut (1) favoriser le maintien de la valeur moyenne du trait soumis à sélection, la moyenne ne varie pas mais sa variance diminue, c'est la sélection stabilisante, (2) favoriser une valeur extrême du trait, la moyenne du trait varie mais pas sa variance, c'est la sélection directionnelle, ou (3) favoriser les valeurs extrêmes du trait, la moyenne du trait ne varie pas mais sa variance augmente, c'est la sélection divergente ou disruptive (Conner et al. 2004).

On peut générer l'évolution d'un trait par un processus de sélection artificielle si le trait sélectionné est variable dans la population et s'il est héritable. Dans une grande majorité des cas, la sélection anthropique est directionnelle, c'est-à-dire qu'elle génère une mortalité exacerbée des individus de grande taille corporelle (voir section 1.2.). Cependant certaines techniques de pêche (au filet notamment) peuvent aussi générer une sélection disruptive, où les valeurs extrêmes des tailles corporelles sont favorisées (e.g. Carlson et al. 2007).

Si un trait z est génétiquement corrélé avec d'autres traits, alors l'évolution de ce trait va également affecter les traits qui lui sont corrélés. De plus, la sélection affecte en général plus d'un seul trait, si bien que le trait est influencé par une sélection directe et par une sélection portant sur tous les traits corrélés. La réponse adaptative de la moyenne de plusieurs traits phénotypiques à la sélection directionnelle peut-être prédite par l'équation multivariée suivante (Lande and Arnold 1983; voir aussi Steppan et al. 2002) :

$$\Delta \overline{z} = G\beta$$
 Eq. 1,

où  $\Delta \overline{z}$  est le vecteur des réponses à la sélection (i.e. valeurs moyennes des traits) qui correspond aux changements des valeurs phénotypiques des traits en 1 génération, *G* désigne la matrice des variances-covariances génétiques additives des traits et  $\beta$  désigne le vecteur des gradients de sélection des traits (i.e. à l'intensité de la sélection). La matrice G est une matrice symétrique carrée. Elle permet de prédire les capacités adaptatives des organismes car elle dévie la trajectoire de la réponse à la sélection sur le paysage adaptatif (**voir Figure 6**) vers la combinaison de traits qui possède la plus grande variance génétique. Plus précisément,
$\beta$  peut s'écrire :

$$\beta = \frac{S}{P}$$
 Eq. 2,

où  $\beta$  correspond au vecteur des coefficients de régression partiel entre la fitness et les traits, en d'autre terme il correspond au changement de fitness par changement de trait, *S* est le vecteur des covariances entre les traits et la fitness et *P* est la matrice des variancescovariances phénotypiques. Pour donner un exemple, l'équation pour deux traits corrélés génétiquement, s'écrit :

$$\begin{bmatrix} \Delta \bar{z_1} \\ \Delta \bar{z_2} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} G_{11} & G_{12} \\ G_{12} & G_{22} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \end{bmatrix} \text{ Eq. 3,}$$

où  $\Delta \bar{z}_1 et \Delta \bar{z}_2$  sont respectivement les vecteurs de réponse du traits 1 et 2 à la sélection,  $G_{11}et G_{22}$  sont respectivement les variances des traits 1 et 2,  $G_{12}$  est la covariance entre les deux traits, et  $\beta_1 et \beta_2$  sont respectivement les gradients de sélection du trait 1 et 2.

Actuellement il peut exister un gradient de sélection qui résulte de l'action simultanée des pressions de sélection naturelle et anthropique. La (les) valeurs(s) de trait pour lequel  $\beta = 0$  définit un équilibre évolutif, c'est-à-dire un minimum ou un maximum de fitness. Seul un maximum de fitness est un équilibre évolutif stable. La théorie de l'évolution des traits d'histoire de vie prédit que les populations sont perpétuellement poussées par la sélection vers des optima (i.e. des pics) de fitness (**voir Figure 6**). Dans le contexte des changements globaux, on peut considérer que les perturbations anthropiques créent des pressions de sélection des pics adaptatifs. Ainsi les perturbations anthropiques créent des gradients de sélection (avec  $\beta \neq 0$ ) auquel les populations doivent répondre sous peine de risquer l'extinction (**voir Figure 6**).





Figure 6: Paysage adaptatif simplifié ou la fonction de fitness W(z), est associée à un seul trait, z. Le point bleu correspond à la valeur moyenne du trait z dans la population. Un pic définit un optimum local de fitness. La courbe noire correspond au paysage adaptatif sous sélection naturelle stabilisante. La courbe orange correspond au paysage adaptatif sous sélection anthropique directionnelle. La courbe rouge correspond au paysage adaptatif lorsque les deux sélections s'appliquent. A t1 seule la sélection naturelle exerce une pression sur le trait, on suppose alors que le trait moyen z dans la population est à l'équilibre évolutif (i.e.  $\beta = 0$ ). A t2 la sélection anthropique s'ajoute à la sélection naturelle et le trait moyen z se retrouve associé à une fitness beaucoup plus faible. Sous l'influence des deux pressions de sélection, et si le trait est capable de répondre à la sélection, le trait moyen devrait évoluer vers le nouvel optimum en t3.

Simplified adaptive landscape where the fitness function W(z), is associated with a single trait, z. The blue dot is the average value of z trait in the population. An adaptive peak defines a local fitness optimum. The black curve corresponds to the adaptive landscape under stabilizing natural selection. The orange curve corresponds to the adaptive landscape under anthropogenic directional selection. The red curve corresponds to the adaptive landscape when both selections are applied. At t1 only natural selection applies pressure on the trait, it is assumed that the average z value in the population is at the evolutionary equilibrium (i.e.  $\beta = 0$ ). At t2 anthrogenic pressure is added to natural selection and the average z value is associated to a lower fitness than at t1. Under influence of the two selection pressures, if the trait is able to respond to selection, the trait should move to the new optimum at t3.

#### 1.3.3. L'adaptation à la pression de sélection de pêche

De nombreux auteurs suggèrent que l'exploitation des populations génère des changements phénotypiques de nature adaptative, c'est-à-dire qu'ils auraient une base génétique (e.g. Heino and Godø 2002; Fenberg and Roy 2007; Hutchings and Fraser 2007; Heino and Dieckmann 2009; Laugen et al. 2012). Les pêcheries forment l'exemple le plus marquant de perte de biodiversité dans les milieux aquatiques, à la fois en termes de diminution des densités et des tailles corporelles (Worm et al. 2006). Nous allons dans cette partie présenter les arguments qui suggèrent que la diminution de la taille corporelle moyenne observée dans les populations pêchées pourraient effectivement être une réponse adaptative et nous allons ensuite présenter quels sont les traits qui répondent à la sélection.

Comme nous l'avons présenté dans le paragraphe précédent (voir section 1.3.2), trois conditions doivent être réunies pour qu'un trait évolue dans une population. Le trait soumis à sélection doit être variable dans la population, c'est le cas de la taille corporelle. Le trait soumis à sélection doit conférer des différences de fitness entre les individus, c'est le cas de la taille corporelle qui est un trait hautement en lien avec la fitness des individus (Blueweiss et al. 1978; Peters 1983; Calder 1984; Roff 1992; Hutchings 2002). Le trait doit être héritable, c'est ce que montre une méta-analyse des valeurs d'héritabilité de la taille corporelle des téléostéens, son héritabilité serait de  $0,30 \pm 0,21$  (moyenne  $\pm$  écart-type ; Law 2000). La taille corporelle est donc bien un trait qui peut évoluer en réponse à la sélection. Dans les populations soumises aux pressions de sélection anthropique, la sélection naturelle exerce également une pression sur les traits des individus. Ces pressions de sélection sont souvent considérées comme étant en opposition, de sorte que la sélection naturelle aurait tendance à favoriser les individus de grande taille corporelle alors que les pressions de sélection anthropique les défavoriseraient (Policansky 1993; Law 2000; Carlson et al. 2007). Les engins de pêche comme les chaluts et les sennes sont par nature taille – sélectifs et sont conçus pour ne capturer que les individus qui dépassent une certaine taille corporelle (et donc un certain âge ; Hutchings and Fraser 2007). Une étude récente a montré que les pressions de sélection naturelle et de pêche qui s'appliquaient sur une population de brochet (Esox lucius) étaient effectivement en opposition (Carlson et al. 2007). Même si certains outils comme les filets permettent de récolter principalement des individus de taille intermédiaire, la majorité des populations exploitées subissent une perte sélective des individus les plus grands (Jackson et al. 2001). En 2011, l'organisation des nations unis pour l'alimentation a mentionné que 29 % des populations halieutiques étaient surexploitées et 61 % étaient déjà exploitées à leur maximum (FAO 2014). Dans certaines populations, la mortalité induite par la pêche est quatre fois supérieure à la mortalité naturelle (Mertz and Myers 1998) suggérant que la réponse observée pourrait être rapide (gradient de sélection fort).

Lorsque la durée de vie moyenne des individus d'une population est réduite par un risque de mortalité accrue, qu'il soit dépendant de la taille ou non, certains individus vont être favorisés. Les individus qui accélèrent leur cycle de vie, en ayant (1) une croissance somatique rapide, (2) un âge à maturité précoce, (3) qui augmentent leur potentiel reproducteur (e.g. augmentation de la fécondité pour une même taille), où (4) qui augmentent leurs capacités d'acquisition des ressources sont ceux qui seront favorisés (Stearns 1992; Hutchings 2002; Roff et al. 2002). Le caractère non aléatoire de la mortalité (i.e. biais positif de la mortalité pour les individus âgés, de grande taille corporelle) va accélérer la réponse de ces traits. Par conséquent la réduction des tailles corporelles peut-être une réponse adaptative directe à la sélection sur la taille corporelle des individus à un âge donné (i.e. diminution du taux de croissance somatique) ou une réponse corrélée, issu d'un trade-off génétique, i.e. d'une corrélation génétique négative (**voir encadré 1**), entre la taille corporelle et un autre trait. Nous allons présenter dans les paragraphes suivants de cette section les trois types de réponse adaptative (i.e. évolution du taux de croissance somatique, de l'âge à maturité et du potentiel reproducteur) qui s'illustrent dans les populations naturelles exploitées.

#### Encadré 1. Les trade-offs entre traits

La théorie de l'évolution des traits d'histoire de vie (Roff 1992; Stearns 1992) s'intéresse aux combinaisons, ou stratégies d'histoire de vie (Stearns 1976) qui conditionne l'adaptation d'un individu à son environnement. La notion de trade-off, centrale dans la théorie des traits d'histoire de vie, désigne une association négative entre deux traits qui contraint leur évolution simultanée. En d'autres terme un trade-off caractérise le coût à payer en terme de fitness qui résulte du changement simultané d'un trait qui augmenterait la fitness et d'un trait qui diminuerait la fitness (Stearns 1989). Sans ces trade-offs, le mécanisme de sélection maximiserait la valeur de tous les traits ayant un effet bénéfique sur la fitness et minimiserait la valeur des traits ayant un effet néfaste sur la fitness. Les trade-offs peuvent être écologique, physiologique et génétique.

Les trade-offs écologiques, résultent de pressions de sélection corrélées entre les traits (sélection jointe). Par exemple, une pression de sélection positive sur un trait peut être liée à une pression corrélée agissant négativement sur d'autres traits. Certains trade-offs, dits physiologiques, résultent de l'allocation différentielle des ressources limitées dont dispose un individu dans son environnement afin de survivre, croître, et se reproduire (Roff 1992 ; Enberg et al. 2012). En outre, des corrélations négatives entre traits apparaissant comme des trade-offs peuvent être contrôlées par des liens génétiques. Par exemple, certains allèles contrôlant différents traits peuvent être liés sur les mêmes portions d'un chromosome et ainsi ségréguer conjointement lors de la méiose, un mécanisme appelé déséquilibre de lien. Deux traits différents peuvent aussi être contrôlés par les mêmes gènes, un mécanisme appelé pléiotropie. Une pléiotropie peut induire un trade-off apparent si elle contrôle deux traits ayant des effets antagonistes sur la fitness.

Une mortalité forte et hautement sélective sur les individus les plus grands et les plus âgés pourrait favoriser les individus qui ont une croissance somatique plus lente (Miller 1957; Heino and Godø 2002; Enberg et al. 2012). Par conséquence directe, les individus de la population exploitée auraient une taille corporelle moyenne réduite. Des études expérimentales montrent qu'une forte mortalité, dépendante de la taille, génère une réponse adaptative du taux de croissance somatique chez la Capucette (Conover and Munch 2002) et la truite arc-en-ciel (Biro and Post 2008). En milieu naturel il est plus difficile de déterminer clairement les mécanismes qui sont à l'origine d'une réduction de la taille corporelle (Enberg et al. 2012) mais certaines études sur des saumons (Ricker 1981; Saura et al. 2010) et des brochets (Edeline et al. 2007) suggèrent que la pêche favorise les individus qui grandissent lentement.

Par ailleurs, la théorie de l'évolution des traits d'histoire de vie prédit qu'une forte augmentation de la mortalité, qui plus est lorsque elle est sélective, contre les individus de grande taille corporelle, peut engendrer une diminution de l'âge à maturité sexuelle (Stearns 1992; Conover 2000; Heino and Godø 2002). En effet, un individu qui entre plus rapidement en phase de maturation sexuelle aura une probabilité de se reproduire plus forte qu'un autre individu dont l'âge à maturité sexuelle ne change pas, et donc aura une meilleure fitness. S'il existe un trade-off génétique entre l'entrée dans la maturité sexuelle et la croissance somatique, alors cette entrée précoce dans la phase de reproduction réduira, par effet corrélé, la taille corporelle moyenne des individus. David Reznick et ses collaborateurs ont démontré par des expériences de transplantation de population qu'une forte mortalité taille-indépendante pouvait faire diminuer de manière adaptative l'âge et la taille corporelle à la maturité sexuelle de guppies Trinidadiens (*Poecilia reticulata* ; pour revue Reznick and Ghalambor 2005). Des exemples de diminution de l'âge à maturation ont également été reportés dans des populations naturelles exploitées, en particulier chez les gadidés (Olsen et al. 2004; Barot et al. 2004).

La population de morues (*Gadus morhua*) du Canada mérite une attention particulière car c'est un des exemples les plus clairs de changements adaptatifs qui précèdent l'effondrement d'une population exploitée (Hutchings 2004). En 30 ans, l'effectif de la population des morues de l'Atlantique Nord aurait décliné de 99,9 %, accompagné par une diminution significative de la taille corporelle moyenne et l'âge moyen à maturité sexuelle. Afin de dissocier les causes génétiques et plastiques de ces changements, Esben Olsen et ses collaborateurs (2004) ont utilisé la méthode des normes de réactions<sup>1</sup> probabilistes (Heino et al. 2002) pour la maturation qui permet de détecter des changements dans l'âge et la taille corporelle à maturité, indépendamment des effets de la croissance somatique sur la maturité (**Figure 7 A et B**). La norme de réaction probabiliste pour la maturation décrit, pour une cohorte donnée, la probabilité, pour un individu, de devenir mature en fonction de l'âge et de la taille, et ce conditionnellement au fait qu'il soit encore immature et qu'il ait survécu et grandi jusqu'à l'âge et la taille considérée. Les auteurs de l'étude ont constaté que la norme de réaction de la maturation probabiliste à laquelle 50 % des individus de la population seraient

<sup>1</sup> Cette terminologie « norme de réaction » est, au sens strict, erronée car une norme de réaction décrit la réponse des génotypes dans différentes conditions environnementales. Néanmoins, si on considère que la variabilité de la croissance somatique a une part environnementale, l'utilisation de norme de réaction probabiliste prend son sens (Hutchings 2004).

matures avait baissé vers des âges précoces et des tailles corporelles réduites dans la population de morues du Canada (Figure 7 C). Cette étude fournit donc un des meilleurs exemples de changements adaptatifs dans les populations exploitées.

Par ailleurs, la théorie de l'évolution des traits d'histoire de vie prédit que l'effort reproducteur devrait augmenter si la mortalité, taille-dépendante ou indépendante, augmente (Heino and Godø 2002; Festa-Bianchet 2003; Fenberg and Roy 2007). Un individu itéropare et longévif qui augmente son investissement dans sa reproduction immédiate aura en effet plus de probabilité d'avoir des descendants qui se reproduisent. S'il existe un trade-off entre la reproduction et la croissance somatique, alors cette augmentation de l'effort reproducteur immédiat diminuera, par effet indirect, la taille corporelle moyenne des individus. C'est ce qui est observé dans le cas d'une population de crabe bleu (*Callinectes sapidus*) de l'Atlantique Ouest, où les mâles plus jeunes et plus petits se reproduisent plus fréquemment lorsque des individus matures et âgés sont absents (i.e. pêchés) que lorsque ces derniers sont présents (Carver et al. 2005).



Figure 7: (A) Illustration de la norme de réaction probabiliste de la maturation (PMRN) décrivant la probabilité que les individus immatures atteignent la maturité conditionnellement à leur âge et à leur taille (tiré de Heino et Dieckmann 2008). (B) Projection de trois contours d'isoprobabilités dans le plan taille-âge, permettant une représentation en deux dimensions de la norme de réaction (tiré de Heino et Dieckmann 2008). (C) Evolution de la norme de réaction de maturation probabiliste pour les femelles de la population de morues de l'Atlantique entre 1980 et 1987 (tiré de Oslen et al. 2004). Les traits pleins correspondent à une probabilité de maturation de 50 %, les traits en pointillés correspondent à 25 et 75 %. La ligne en trait discontinue correspond à la trajectoire de croissance moyenne.

(A) Illustration of a probabilistic reaction norm for age and size at maturation (PMNR) describing the probability that immature individuals will reach maturity within a certain time interval as a function of their age and size. (B) When the resultant isoprobability contours are projected onto the age-size plane, a two-dimensional representation of the reaction norm is obtained. Three isoprobability contours are plotted in each panel (from Heino and Dieckmann 2008). (C) Evolution of probabilistic maturation reaction norm for females of the cod population in the Atlantic between 1987 and 1980 (from Oslen et al. 2004). Solid lines correspond to the probabilistic reaction norm maturation midpoint (50%), the dotted lines correspond to 25 and 75%. the dashed line corresponds to the average growth trajectory.

# **1.4. Les conséquences d'une réponse adaptative pour les populations**

Un certain nombre d'études suggèrent que des changements adaptatifs apparaissent dans les populations soumises aux pressions de sélection anthropiques (voir section 1.3.). Ces changements adaptatifs pourraient permettre de « sauver » la population (voir Figure 6) mais il est possible que ces changements en réponse à l'action combinée de la sélection naturelle et artificielle ne soit plus à l'optimum local du paysage adaptatif du trait soumis à la seule sélection naturelle (Carlson et al. 2007). Si l'intensité de la sélection artificielle est forte et que la population est capable de s'adapter (voir section 1.3.2), le nouvel optimum local pourrait être « déplacé » par rapport à l'optimum local naturellement sélectionné vers des tailles corporelles plus petites et son sommet pourrait être plus bas (voir Figure 6). La taille corporelle des vertébrés est un trait phénotypique clé qui reflète un grand nombre de traits d'histoire de vie (Blueweiss et al. 1978; Peters 1983; Calder 1984; Roff 1992; Brown and Sibly 2006) d'un individu (e.g. âge et taille à maturité sexuelle, croissance somatique). Jeffrey Hutchings et John Reynolds recensent les principaux traits d'histoire de vie qui pourraient influencer le potentiel de récupération d'une population exploitée (Hutchings and Reynolds 2004). En général, la taille corporelle d'un individu mature est positivement corrélée à sa survie et son potentiel reproducteur (i.e. taille des œufs, des larves, survie des juvéniles). Par exemple chez les poissons ovipares la taille des femelles est positivement corrélée à leur fécondité et à leur survie (Hutchings 2002). Une population composée d'individus de petite taille pourrait donc avoir un potentiel reproducteur plus faible, et diminuer la hauteur du nouvel optimum local (voir Figure 6), c'est-à-dire la fitness moyenne de la population (Hutchings and Reynolds 2004; Brown and Sibly 2006). Dans une expérience de sélection artificielle sur la taille corporelle de Capucette (Menidia menidia), Matthew Walsh et ses collaborateurs (2006) ont effectivement montré qu'une population exploitée pour de grandes tailles corporelles présentait un déclin substantiel de la fécondité, de la capacité à s'alimenter, de la taille des œufs, de la taille des larves, de leur croissance somatique et de leur viabilité. En outre, une diminution de l'âge à maturité sexuelle pourrait également augmenter le risque d'extinction de la population car une maturité précoce est souvent associée à une longévité plus faible (coût de la reproduction) chez les espèces itéropares et à un moins bon potentiel reproducteur (Hutchings 2002; Roff et al. 2002). Par exemple, une étude expérimentale du potentiel reproducteur de morues (Gadus morhua) a montré que les femelles plus jeunes qui effectuaient leur première reproduction étaient de moins bonnes reproductrices que leur congénères plus âgées (Trippel 1998). Ainsi une population « perturbée » par des activités anthropiques, dont la taille moyenne diminue risque de voir également diminuer son effectif. Par conséquent elle pourrait être plus exposée à un risque d'effondrement densité-dépendent (voir encadré 2.1. et 2.2.). Un taux de croissance de la population plus faible augmente en effet les risques d'extinctions stochastiques (Lande 1988). Par ailleurs, certaines populations sont soumises à des effets densité-dépendants positifs (effet Allee) qui peuvent également augmenter leur probabilité d'extinction si leur effectif passe en dessous d'une valeur seuil (Courchamp et al. 1999).

Les facteurs anthropiques, en particulier la surexploitation, génèrent des changements de traits d'histoire de vie dans les populations qui peuvent s'accompagner d'une altération de leur environnement, et la nature plastique et/ou génétique de ces changements est difficile à établir (Conover 2000; Law 2000; Fenberg and Roy 2007; Conover and Baumann 2009). Pourtant des déplacements de traits évolutifs pourraient avoir des conséquences beaucoup plus dramatiques à long terme pour ces populations que des changements purement plastiques (Allendorf and Hard 2009). En complément des conséquences néfastes présentées ci-dessus, une réponse adaptative des populations aux pressions anthropiques pourrait diminuer les capacités d'adaptation futures par érosion de la diversité génétique de la population (Ryman et al. 1995).

Dans ce contexte j'ai réalisé une expérience de sélection artificielle tailledépendante (voir chapitre 4) sur un poisson afin d'étudier les mécanismes d'adaptation des populations. Les objectifs spécifiques étaient (1) d'identifier quels traits sont susceptibles d'évoluer en réponse à une sélection taille-dépendante, (2) d'observer comment ces traits répondent (magnitude et direction) et (3) d'envisager les conséquences pour les populations (i.e. estimation de la fitness moyenne des populations sélectionnées).

#### Encadré 2.1. : Stochasticité dans les petites populations

Lorsqu'une population devient petite, certains processus stochastiques démographiques et génétiques se trouvent perturbés. Les effets de ces processus démographiques et génétiques et leurs interactions peuvent contribuer à augmenter le risque d'extinction des populations à faible effectif, par vortex d'extinction (Shaffer 1981; Lande 1988). Les processus stochastiques désignent les variations aléatoires qui se produisent à l'échelle des gènes (dérive génétique), des individus (stochasticité démographique) ou des populations (stochasticité environnementale). Or la loi des grands nombres prédit que pour une variable aléatoire normalement distribuée, plus le nombre de tirages augmente, plus la moyenne de l'échantillon s'approche de la moyenne théorique. Par conséquent dans une petite population (faible nombre de tirages) la moyenne réalisée d'un événement peut s'éloigner de la moyenne théorique.

La stochasticité démographique correspond à la variabilité aléatoire qu'ont les individus de survivre et de se reproduire. Dans le cas d'une grande population, les taux moyens de survie et de reproduction réalisés sont proches des taux moyens théoriques (i.e. loi des grands nombres) et suffisent pour assurer la croissance de la population. Dans une petite population, même si elle possède en théorie les taux de survie et de reproduction suffisant pour assurer la croissance de la population dévie fortement de son comportement théorique car la dynamique globale va dépendre d'un faible nombre d'événement (i.e. de tirage aléatoire) de survie et de reproduction. Par exemple la population de Bruant maritime en Floride de très faible effectif en 1980 s'est complètement éteinte en 1987 car des phénomènes de stochasticité démographique ont engendré un sexe ratio complément biaisé en faveur des mâles (Delany et al. 1981).

Dans les petites populations le risque de se reproduire entre individus génétiquement proches augmente et le risque d'exprimer des allèles qui ont un effet défavorable sur la survie ou la fécondité des individus augmente, c'est le phénomène de dépression de consanguinité (Charlesworth and Charlesworth 1987). La stochasticité génétique, ou la dérive génétique, fait référence aux variations aléatoires des fréquences alléliques dues à la ségrégation aléatoire des allèles lors de la méiose et à la fécondation aléatoire des gamètes dans le cas d'une reproduction sexuée. Dans une petite population, la fixation d'un allèle délétère ou la perte d'un allèle favorable pour la survie ou la reproduction augmente et peut réduire le taux de croissance de la population (Lande 1988; Frankham 2005). Par ailleurs, la perte d'individus ainsi que l'augmentation de la consanguinité et l'augmentation de la perte d'allèles par dérive génétique diminue la diversité génétique de la population. Or l'homogénéisation génétique diminue les capacités d'adaptations de la population dans son environnement (Willi et al. 2006).

#### Encadré 2.2. : Effet Allee

L'effet Allee désigne une relation positive entre la taille de la population (son effectif) et son taux de croissance (Allee et al. 1949; Courchamp et al. 1999; Stephens et al. 1999). Le groupe agirait alors positivement sur la survie et la fitness (valeur sélective) individuelle. Ainsi la probabilité d'extinction des populations pourrait augmenter lorsque son effectif est diminué (Lande 1988). Les mécanismes sous-jacents de l'effet Allee sont nombreux (Stephens et al. 1999). Les principaux bénéfices pouvant être obtenus dans une population de grande taille sont les suivants : (1) augmentation de la survie par diminution de la prédation (dilution des prédateurs ; cas des nombreux poissons, vigilance anti-prédateur ; cas des mangoustes, saturation des prédateurs ; cas de certaines plantes) et (2) augmentation de la survie par optimisation de l'environnement (thermorégulation ; cas des manchots, facilitation ; cas de certaines plantes) et (3) augmentation du succès reproducteur (cas de nombreux mammifères, oiseaux). A titre d'exemple, une étude de Elena Angulo et ses collaborateurs (2007) a montré que la survie des populations de renard des îles de Californie (*Urocyon littoralis*) augmente lorsque leur effectif est important du fait de la dilution de la pression de prédation exercée par les aigles dorés (*Aquila chrysaetos*).

## 1.5. Les conséquences écologiques de l'érosion de biodiversité

#### 1.4.1. La diversité des interactions biotiques

Les organismes évoluent dans des réseaux d'interactions biotiques dans lesquels ils sont connectés les uns aux autres (Darwin 1859). Les relations directes qu'entretiennent deux populations d'espèces différentes peuvent être classées sur la base des coûts et des bénéfices pour les partenaires (**Tableau 1**; Tirard et al. 2012). Dans les relations trophiques, rassemblant les relations de prédation, d'herbivorie ou de parasitisme, un des deux partenaires retire un bénéfice au détriment de l'autre. Les populations peuvent également entrer en compétition pour l'utilisation d'une ressource, avec un effet négatif pour les deux populations. Enfin la relation peut être bénéfique pour l'un sans nuire à l'autre (commensalisme) ou être bénéfique pour les deux partenaires en association (mutualisme et symbiose). Il apparaît donc probable que les perturbations anthropiques affectant l'abondance, mais aussi les traits phénotypiques d'une population se répercutent sur d'autres populations, et/ou sur ces ressources, et donc par conséquent modifient les communautés et le fonctionnement de l'écosystème que ces

populations partagent (de Ruiter et al. 1995; Power et al. 1996).

Il paraît donc important de s'intéresser aux conséquences écologiques de la perte de biodiversité non aléatoire, en terme de réduction d'abondance mais aussi en terme de changement des traits phénotypiques.

Tableau1.Lesdifférentstypesd'interactionsbiotiquesentreindividus/populations/espèces(dénommé partenaire ici).Le (+)désigne les interactionsbénéfiques, le (-)les interactionsdéfavorableset le (0)les interactionsneutres.Ladernièrecolonnemontrequelsseraientles effetsde la diminutiondu partenaireA sur lal'effectifdu partenaireB.

Table 1. Biotic interactions between individuals/populations/species (called partner here). The (+) is for beneficial interaction, (-) is for adverse interaction and (0) is for neutral interaction. The last column shows expected effects of the decrease in A partner on the density of B partner.

Interaction	Partenaire A	Partenaire B	Effet sur B de la diminution de A
Mutualiste (et symbiose)	+	+	-
Trophique (prédation, herbivorie et parasitisme)	+	-	+
Compétition (directe et indirecte)	-	-	+
Amensalisme	0	-	+
Commensalisme	0	+	-

## **1.4.2. Des effets trait-dépendant et densité-dépendant dans les réseaux d'interactions**

Les activités anthropiques génèrent plus particulièrement des pertes d'espèces de grande taille corporelle. La diminution de leur effectif, et à l'extrême leur extinction risque de se répercuter sur les populations des espèces avec lesquelles elles étaient en interactions directes (**Tableau** 1) et indirectes (via les réseaux d'interactions). Les espèces de grande taille corporelle ont souvent un rôle particulier dans le fonctionnement des écosystèmes de sorte que leur extinction peut faire basculer l'équilibre écologique d'un écosystème (i.e. passage d'un équilibre écologique à un autre impliquant des communautés et des processus différents) et peut même accélérer la perte de biodiversité. Elles peuvent être qualifiées d'espèces « clef de voûte » quand leur extinction a des répercussions sur beaucoup d'autres, souvent bien au-delà

de ce qui aurait pu être attendu d'un examen de leur abondance (Power et al. 1996). Parfois elles peuvent jouer le rôle de « sentinelle » quand des modifications de leur démographie indiquent des changements chez d'autres espèces, ou reflètent des changements des processus écologiques d'un écosystème (Dajoz 2006)). Elles peuvent également être qualifiées d'espèces « parapluie » lorsque la protection de leur habitat (large) permet d'assurer la protection d'autres espèces (Dajoz 2006). En parallèle de ces effets densité-dépendants dans les réseaux d'interactions, des effets trait-dépendants, et en particulier taille-dépendants pourraient également fortement modifier les réseaux d'interactions. Ces perturbations écologiques pourraient être principalement liées à des effets dans les réseaux trophiques, mais il pourrait y avoir des répercussions également dans d'autres réseaux d'interactions, en particulier dans les réseaux d'interaction de compétition.

Les interactions trophiques (prédation, herbivorie, parasitisme) entre deux populations sont asymétriques, elles procurent des bénéfices à une population (prédateur, herbivore, parasite) au détriment de l'autre (proie, hôte). Ces interactions lient les organismes les uns aux autres au sein d'une chaîne ou d'un réseau trophique constitué de plusieurs niveaux trophiques qui indiquent le degré d'éloignement d'un niveau par rapport au niveau basal, constitué par une ou des populations de producteurs primaires (Lindeman 1942). Ainsi les perturbations d'un niveau trophique peuvent se répercuter dans un réseau trophique, par des effets descendants, ou « top-down », et ascendants, ou « bottom-up ».

Le contrôle « top-down » d'un réseau trophique implique qu'une perturbation au sommet du réseau trophique se répercute aux niveaux trophiques inférieurs, par cascade trophique (Hairston et al. 1960; Oksanen et al. 1981). Ces cascades trophiques existent en milieux terrestres et aquatiques (Strong 1992; Knight et al. 2005) et peuvent être à l'origine de véritables basculements écologiques (Carpenter et al. 1985; Folke et al. 2004). Les cascades trophiques sont généralement attribuées à des variations de densité des prédateurs de sommet de chaîne (Hairston et al. 1960; Oksanen et al. 1981). Or, la taille corporelle des individus est un trait clé des interactions trophiques et des performances de prédation (Peters 1983; Cohen et al. 1993; Woodward et al. 2005). Par exemple, la taille corporelle est un bon indicateur du niveau trophique d'une espèce dans un réseau : dans le réseau trophique du lac de Tuesday aux États-Unis la plus petite espèce de phytoplancton est dix milliards de fois moins massive que la plus grande espèce de poisson piscivore (**Figure 8 ;** Woodward et al. 2005). Par ailleurs, le temps de manipulation des proies diminue avec la taille corporelle des prédateurs alors que la

taille de la bouche et les besoins énergétiques des prédateurs augmentent (Woodward et al. 2005; Palkovacs et al. 2009; Barneche et al. 2014). Des études ont effectivement montré que la gamme de taille d'un consommateur déterminait la gamme de taille des proies consommées (e.g. Post et al. 2008; Keddy et al. 2009).



Figure 8: Le réseau trophique du lac de Tuesday aux Etats-Unis. Ce graphique montre les relations entre la masse corporelle (log M) et l'abondance (log N) et les liens trophiques. Les flèches indiquent la direction du flux d'énergie, qui est principalement dirigé des petites espèces, les plus abondantes, vers les espèces les plus grandes, les plus rares. Les espèces basales sont indiquées par les carrés verts, les espèces intermédiaires en carrés bleus et les espèces de sommet de réseau sont figurés par des carrés rouges (tiré de Woodward et al. 2005).

Food web for Tuesday Lake in the USA showing trivariate relationships between log 10 body mass (M), log 10 abundance (N) and trophic links. Arrows show the direction of energy flux, which is predominantly from smaller, more abundant species to larger, rarer species. Basal species are shown in green, intermediate species in blue and top species in red (from Woodward et al. 2005).

Récemment des études ont révélé l'existence de cascades trophiques densitédépendantes induites par la perte non aléatoire de biodiversité au sommet des chaînes trophiques (Strong and Frank 2010; Estes et al. 2011). Ces cascades trophiques d'origine anthropique ont particulièrement été mises en évidence dans les écosystèmes où une population est exploitée (Jackson et al. 2001; Scheffer et al. 2005; Daskalov et al. 2007; Baum and Worm 2009). Par exemple, en Alaska, l'exploitation conjointe des phoques, chassés pour leur fourrure, et des poissons qu'ils consommaient, a entraîné une véritable perturbation écologique, caractérisée par un changement de la structure de l'écosystème. L'exploitation a entraîné indirectement la diminution drastique des loutres de mer et un relâchement de la prédation qu'elles exerçaient sur leur proie, des oursins. Cette diminution de la prédation a permis la prolifération des oursins et a réduit très fortement la quantité d'algues géantes, des laminaires, dans le milieu (Figure 9 ; Estes and Duggins 1995). La perte des laminaires a engendré la diminution des espèces qui y trouvaient refuge et qui s'en nourrissaient. Dans certaines conditions, une perte du contrôle « top-down », ou une forte réduction, peut, au travers des différents types d'interactions d'une communauté, diminuer la biodiversité locale. C'est ce que Robert Paine a démontré expérimentalement en 1980. Dans cette étude il montre que la perte d'une population d'étoile de mer (Pisaster ochraceus), fonctionnellement placée en sommet du réseau trophique côtier, réduisait de 53 % la diversité spécifique via l'augmentation indirecte de l'exclusion compétitive parmi ses proies (Paine 1980). Dans ce réseau l'étoile de mer joue le rôle d'une espèce clef de voûte, en exerçant un contrôle spécifique d'une espèce compétitrice dominante, qui permet indirectement la coexistence (Power et al. 1996).



Figure 9: Réseau trophique simplifié des eaux côtières d'Alaska avant et pendant la surexploitation des poissons piscivores et des phoques. La taille des boites est proportionnelle à l'effectif de chaque population. A gauche, le réseau trophique avant perturbations anthropiques, à droite, le réseau trophique après perturbations anthropiques. Le sens des flèches va de la proie vers le le consommateur (« mangée par »).

Simplified food web of the coastal waters of Alaska before and during the overexploitation of fish-eating fish and seals. The size of the boxes is proportional to the size of each population. On the left, the food web before human disturbance, right, the food web after human disturbance. The arrows "eaten by", go from the prey to the consumer.

Actuellement les effets en cascade d'origine anthropique sont attribués à la diminution des populations en sommet de réseau trophique, pourtant le rôle clé de la taille corporelle suggère que des effets en cascade pourraient provenir d'une variation de la taille. Une étude empirique récente suggère que des cascades trophiques d'origine anthropiques pourraient être taille-dépendants (Shackell et al. 2010). D'après les auteurs la diminution de la taille corporelle moyenne des populations de poissons démersaux de l'Atlantique Nord, serait

corrélée à une diminution du contrôle « top-down » que ces poissons exerçaient sur les niveaux trophiques inférieurs alors même que l'abondance de ces poissons a augmenté (Shackell et al. 2010). Cette étude souligne donc le fait que des effets taille-dépendants pourraient avoir autant de conséquences écologiques que des effets densité-dépendants.

Par ailleurs une perturbation au niveau du sommet du réseau trophique pourrait également modifier le contrôle « bottom-up ». Le contrôle « bottom-up » d'un réseau trophique implique que l'abondance des populations de certains niveaux trophiques est régulée par les nutriments (Oksanen et al. 1981). Or les populations de sommet de réseaux trophiques, en particulier dans les milieux aquatiques, génèrent un apport de matières organiques non négligeable, qui peut perturber le contrôle « bottom-up » (Vanni 2002). La diminution de la taille corporelle moyenne des populations pourrait fortement modifier les flux biogéochimiques via une modification des apports en nutriments (Reznick and Ghalambor 2005; Bassar et al. 2012). Une étude a montré que les poissons de petites tailles avait des taux d'excrétions plus rapide et un ratio carbone-phosphore plus bas que des poissons de grandes tailles (Hall et al. 2007), ce qui pourrait favoriser la production primaire (Palkovacs et al. 2009). Par exemple, la diminution de l'effectif d'une population de saumon (*Oncorhynchus nerka*) a entraîné une forte réduction du flux de matières organiques dans les cours d'eau où les individus se reproduisaient en Alaska, flux nécessaire à la fertilisation du sol de la rivière (Moore et al. 2007).

Les interactions de compétition désignent les interactions qui sont néfastes pour les deux populations qui interagissent. Il y a compétition quand les organismes utilisent des ressources communes présentes en quantité limitées ou, si ces ressources ne sont pas limitantes, quand les organismes en concurrence se nuisent. Or les espèces de grande taille corporelle sont en général de forts compétiteurs (Fenberg and Roy 2007). Ainsi les changements de taille corporelle, la réduction de l'effectif, ou à l'extrême l'extinction d'une population pourrait favoriser la croissance d'une population avec laquelle elle était en compétition en libérant l'accès aux ressources. Par exemple, des auteurs proposent que la diminution d'effectif d'une population de baleines en Antarctique pourrait favoriser indirectement la population de pingouin à jugulaire (*Pygoscelis antarctica*) au travers d'une augmentation de la quantité de leur proie commune (Fraser et al. 1992).

Les diminutions d'effectif, la réduction des tailles corporelles et à l'extrême,

l'extinction des espèces de grande taille corporelle pourraient donc avoir des effets majeurs dans les réseaux d'interactions, en particulier dans les réseaux trophiques où la taille corporelle détermine les performances de prédation.

Dans ce contexte j'ai réalisé une expérience où j'ai testé l'implication relative des effets des traits et des effets démographie dans une chaîne trophique à trois niveaux (chapitre 3). Cette expérience avait pour objectifs à la fois (1) d'identifier les conséquences écologiques des variations phénotypiques (i.e. la taille et la forme corporelle d'un poisson) et (2) de quantifier ces effets par rapport à une variation démographique (i.e. présence-absence d'un poisson).

### 1.6. La biodiversité et les sociétés humaines

Le fonctionnement d'un écosystème désigne l'ensemble des processus écologiques qui contrôlent les flux d'énergie et de matière d'un environnement local (e.g. production primaire, décomposition). Par exemple la production primaire est un processus écologique qui résulte de la conversion de la matière inorganique en matière organique par les producteurs primaires via l'utilisation de l'énergie lumineuse. Ce processus contribue au cycle des éléments nutritifs. À partir des années 1980, de nombreuses études ont cherché à comprendre et mettre en évidence les liens entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes (Loreau et al. 2001; Hooper et al. 2005; Cardinale et al. 2006; Tilman et al. 2014). A ce jour la plupart des liens qui ont été recensés entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes sont caractérisés par un lien entre la diversité spécifique et un processus écologique (Chapin III et al. 1997; Chapin III et al. 2000). Par exemple les variations d'abondances de prédateur en sommet de réseau trophique (i.e. variation de la composition spécifique de l'écosystème) déterminent la productivité primaire d'un écosystème. En milieu lacustre, la diminution du nombre de poissons zooplanctivores augmente la quantité de zooplancton et diminue indirectement la quantité de phytoplancton, donc réduit la productivité primaire (Carpenter and Kitchell 1993). La mise en évidence de ces liens repose principalement sur le fait que les traits biologiques des espèces influencent les interactions biotiques qui lient les individus/populations/espèces entre eux et avec leur biotope (Chapin III et al. 2000; Hooper et al. 2005). Or les traits biologiques des espèces sont actuellement soumis à des changements importants, via des mécanismes d'adaptations des populations aux changements globaux et des phénomènes d'érosion lorsque

les populations, et leur traits, disparaissent. Le fonctionnement des écosystèmes pourrait donc être modifié par l'érosion de la biodiversité (Palkovacs et al. 2012). Or le fonctionnement des écosystèmes joue un rôle fondamental dans nos sociétés humaines par les nombreux services écosystémiques (**voir Figure 10**) qui peuvent en résulter ((Chapin III et al. 2000; Díaz et al. 2006; Cardinale et al. 2012).

Une des premières définitions du concept de service écosystémique est celle proposée par Paul Ehrlich et Harold Mooney (1983) qui décrivent que « les écosystèmes sont une source importante de bien-être humain, et que la dégradation des biocénoses affecte leur fonctionnement et donc les services que les humains en retirent ». Cette définition sera celle reprise par l'évaluation des écosystèmes pour le millénaire, qui décrit que les services écosystémiques, ou écologiques, regroupent tous « les bénéfices que l'humanité peut retirer du fonctionnement des écosystèmes » (Millennium Ecosystem Assessment 2005). Ces services sont classés en quatre catégories : (1) les services de « support », qui sont à la base de tous les autres (e.g. production primaire, pédogénèse), (2) les services « d'approvisionnement » qui correspondent aux biens directement exploitables par l'Homme (e.g. source de nourriture, de matériaux), (3) les services de « régulation » (e.g. régulation du climat, filtration de l'eau), et (4) les services « culturels » qui correspondent aux biens immatériels dont l'Homme profite (e.g. Nature esthétique, récréative). Un processus écologique peut faire partie de plusieurs catégories de services écosystémiques, par exemple la productivité d'une population de poissons exploitées fait partie à la fois des services « d'approvisionnement » mais aussi des services de « régulation » par les interactions biotiques qu'elle entretient au sein de l'écosystème. Si l'on reprend l'exemple du milieu lacustre, une modification de la biodiversité (i.e. abondance de poissons zooplanctivores) pourrait effectivement impacter un potentiel service de type « culturel » : la baignade, en modifiant la clarté de l'eau.

Une meilleure compréhension des conséquences évolutives et écologiques de la perte de biodiversité non aléatoire est donc devenue une des préoccupations majeures de nos sociétés (Chapin III et al. 2000; Díaz et al. 2006; Cardinale et al. 2012).



Figure 10: Liens entre la biodiversité et les sociétés humaines. La biodiversité à tous ses niveaux est intimement liée au fonctionnement des écosystèmes, aux processus écosystémiques via les interactions entre organismes au sein de leur environnement. Ces processus et la biodiversité *per se* concourent au bon fonctionnement des sociétés humaines via de nombreux bénéfices qu'ils nous offrent. Les changements globaux d'origine anthropique menacent la biodiversité et les services qui en découlent.

Links between biodiversity and human societies. All levels of biodiversity are closely linked to ecosystem functioning, to ecosystem processes, through biotic and biotic-abiotic interactions. These processes and biodiversity *per se* contribute to the human well-being through ecosystem services. Anthropogenic global change threats biodiversity and ecosystem services.

## 1.7. Les objectifs et la structure de la thèse

L'objectif général de la thèse était d'étudier expérimentalement les conséquences évolutives et écologiques de la perte de biodiversité. Plus spécifiquement nous avons choisi de nous intéresser aux conséquences de la sélection taille-dépendante pour les populations (**chapitre 4**) et aux conséquences des changements de taille corporelle dans le fonctionnement des écosystèmes (**chapitre 3**). Pour ce faire, deux expériences ont été réalisées afin d'aborder de manière intégrée, « du gène à l'écosystème » les mécanismes génétiques et écologiques liés à l'évolution phénotypique rapide en réponse à la sélection taille-dépendante. Dans ces expériences j'ai manipulé la taille corporelle de petits poissons d'eau douce (Médaka ; *Oryzias latipes*). Dans la suite de ce manuscrit j'ai choisi de présenter les expériences dans l'ordre chronologique de réalisation, afin de suivre la démarche scientifique qui a été adoptée durant la thèse. Nous avons d'abord testé l'effet de la variation phénotypique naturelle du médaka dans une chaîne trophique, puis nous avons induit une pression de sélection sur la taille corporelle pour explorer les mécanismes d'adaptations et ses conséquences à l'échelle de la population.

Dans le chapitre 2 les expériences et les choix expérimentaux sont présentés.

Dans le chapitre 3 les résultats d'une première expérience où j'ai étudié les conséquences des changements de taille corporelle dans le fonctionnement des écosystèmes sont présentés. Ce chapitre est inclu sous la forme d'un article scientifique qui est paru dans la revue *Oikos* en décembre 2015. Les questions spécifiques associées à cette expérience étaient les suivantes :

- Comment la taille corporelle d'un consommateur de sommet de chaîne trophique influence la cascade trophique qu'il induit ?
- Comment la forme corporelle d'un consommateur de sommet de chaîne trophique influence la cascade trophique qu'il induit ?
- Quelles sont les contributions relatives des effets taille-dépendant (i.e. changement de taille corporelle) et des effets densité-dépendant (i.e. changement d'effectif) dans la cascade trophique ?

Dans le chapitre 4 les résultats d'une deuxième expérience dont le but était d'étudier les conséquences de la sélection taille-dépendante pour les populations sont présentés. Ce chapitre est rédigé sous la forme d'un article scientifique en anglais préparé pour être soumis à la revue *Evolutionary applications*. Les questions spécifiques associées à cette expérience étaient les suivantes :

- Quels sont les traits (à l'échelle macroscopique et moléculaire) qui répondent à la sélection (directement et indirectement) ?
- Comment les traits répondent à la sélection ?
- Comment les changements de traits impactent la fitness moyenne des populations en laboratoire ?

Chapitre 2 : Matériels et méthodes

Chapitre 2 : Matériels et méthodes | 59

## Résumé du chapitre 2

L'objectif de ce chapitre de matériels et méthodes est d'introduire les expériences réalisées et de présenter les choix expérimentaux. Dans une première partie les avantages et les limites de l'approche expérimentale sont présentés. Dans une seconde partie le modèle d'étude et ses intérêts sont détaillés. Dans une troisième partie les expériences sont présentées et illustrées.

## 2.1. Les apports de la démarche expérimentale

Pour répondre aux questions présentées dans le premier chapitre, deux études expérimentales ont été réalisées. Nous allons dans cette partie présenter le principe de la démarche expérimentale, ses intérêts et présenter ses apports dans l'investigation des conséquences évolutives de la sélection taille-dépendante liée à l'exploitation.

## 2.1.1. Les différents types d'études en écologie

L'écologie est une discipline polymorphe et son étude moderne repose sur trois types d'approches, une approche *in situ*, une approche par modélisation mathématique, et une approche expérimentale. L'approche *in situ* repose sur des observations en milieu naturel des individus, des populations et des écosystèmes (Reznick and Ghalambor 2001). Elle permet d'associer par corrélation des faits biologiques à des conditions environnementales spécifiques (e.g., fluctuations périodiques associées de deux espèces en relations proie-prédateur). La modélisation mathématique repose sur la mise en équation des processus écologiques (e.g. May 2007), soit connus afin de produire des prédictions, soit inconnus afin de tester des mécanismes (e.g. proposition d'équations différentielles illustrant les dynamiques proies-prédateurs cycliques). Enfin l'approche expérimentale, placée conceptuellement entre l'approche in situ et l'approche par modélisation mathématique (e.g. Bonsall and Hassell 2005), repose sur des observations dans des conditions environnementales contrôlées (Resetarits and Bernardo 1998; Bonsall and Hassell 2005) permettant la mise en évidence d'un lien de causalité entre des faits biologiques connus ou inconnus et les conditions imposées (e.g. lien entre la densité de proie et le taux de survie des prédateurs).

## 2.1.2. Le principe et les intérêts de la démarche expérimentale

Le principe de l'écologie expérimentale repose sur la manipulation (la variation) d'au moins un facteur environnemental et l'étude des conséquences biologiques qui en découlent (Resetarits and Bernardo 1998). Elle permet « d'identifier les causes » : c'est-à-dire de mettre en évidence les facteurs environnementaux qui sont à l'origine de certains phénomènes biologiques

observés en milieu naturel. Elle permet également de « quantifier les liens de causalité » : c'est-à-dire d'explorer les relations fonctionnelles spécifiques qui relient un facteur d'intérêt et la réponse biologique qui y est associée et leur importance. Elle permet aussi de valider des théories : c'est-à-dire de tester l'exactitude des prédictions formulées théoriquement et l'exactitude des hypothèses attenant la théorie. On voit ici que la démarche expérimentale en écologie est fondamentale et qu'elle est directement en lien avec les autres approches. L'étude des dynamiques proie-prédateur fournit un bon exemple des relations étroites que peuvent avoir les trois types d'approches. Un premier modèle mathématique a été proposé par Vitto Volterra afin d'expliciter l'effet de la pêche aux sardines sur l'abondance des populations de requins et de sardines enregistré in situ dans la mer Adriatique (Volterra 1926). Le modèle de Lotka-Volterra fut par la suite à l'origine de nombreux travaux expérimentaux. Par exemple Nicholson en 1954 a montré au travers d'une expérience que la compétition interspécifique pouvait générer des fluctuations d'abondance proie-prédateurs cycliques comme le suggérait le modèle mathématique de Lotka-Volterra (Nicholson 1954; Dajoz 2006). Cette découverte, comme d'autres rendues possibles par l'expérimentation, permirent d'améliorer les modèles en les rendant plus réalistes.

La démarche expérimentale entreprise durant cette thèse présente également les intérêts cités dans le paragraphe ci-dessus. La première expérience que j'ai réalisée avait pour objectifs à la fois d'identifier les conséquences écologiques des variations phénotypiques (i.e. la taille et la forme corporelle) et de quantifier ces effets par rapport à une variation démographique (présence-absence). La seconde expérience avait pour objectifs de mesurer la réponse évolutive d'un trait phénotypique sélectionné (i.e. la taille corporelle à un âge donné) et de mesurer les réponses indirectes des traits corrélés. Nous avons également complété cette analyse par l'estimation des conséquences au niveau des populations (i.e. calcul de la fitness) de la sélection taille-dépendante.

#### 2.1.3. L'étude expérimentale des mécanismes d'adaptations à la pêche

L'exploitation, et particulièrement la pêche est une activité humaine par nature hautement taille - sélective (e.g. Law 2000; Allendorf and Hard 2009) qui augmente la mortalité des grands, des vieux poissons qui sont, pour des raisons économiques, des cibles préférentielles. De nombreuses études *in situ* ont suggérées que les traits biologiques des organismes soumis à une exploitation sélective auraient évolués en réponse à la pression de sélection sur la taille corporelle (e.g. Law 2000; Jørgensen et al. 2007). La compréhension des mécanismes d'adaptations, de leurs causes, et de leurs conséquences aux échelles des populations exploitées et de leur écosystème sont des étapes indispensables pour être capable de proposer des mesures de gestion adaptées à ces populations exploitées. Hors en milieu naturel, les causes d'évolution des traits ne sont pas clairement établies (Conover and Baumann 2009). La sélection taille-dépendante mais aussi les altérations de l'habitat et la densité de la population peuvent être à l'origine des changements observés. Par ailleurs les changements des traits biologiques peuvent résulter de mécanismes plastiques. Les expériences de sélection peuvent fournir des éléments pour identifier les causes (sélection sur la taille ou autres), leur nature (plastique et/ou génétique) et les mécanismes sous-jacents de ces changements de traits biologiques (Garland 2003; Fuller et al. 2005; Conover and Baumann 2009; Diaz Pauli and Heino 2014).

La sélection artificielle permet de standardiser les conditions environnementales afin de mesurer des variations phénotypiques ayant pour origine des variations génétiques induites par la pression exercée. Elle permet de déterminer quels traits sont capables de répondre, et comment, face à un agent de sélection connu dans un environnement local commun. Elle permet également de quantifier les capacités d'adaptation, l'évolvabilité (Hansen et al. 2011), de la population en réponse à l'agent de sélection, et les corrélations génétiques entre traits (Fuller et al. 2005). Par ailleurs les populations ainsi sélectionnées pourraient ensuite être intégrées dans des écosystèmes semi-naturels afin d'observer les changements écologiques qui en découlent (**voir section 5.2**).

Les principales limites des expériences de sélection artificielle reposent sur (1) la simplification de l'environnement, (2) le type d'organisme employé, majoritairement à cycle de vie rapide, (3) et la force de la pression de sélection appliquée (Diaz Pauli and Heino 2014). La simplification de l'environnement peut effectivement réduire les possibilités de transposition aux milieux naturels où les conditions environnementales sont plus complexes mais elle permet de mieux comprendre les mécanismes d'adaptations. Les espèces utilisées dans les expériences de sélection artificielle sont souvent des espèces à cycle de vie rapide alors que les populations naturelles exploitées sont souvent des espèces de grande taille corporelle à cycle de vie relativement lent. On peut, néanmoins, supposer que les mécanismes de réponse à la sélection seraient le même dans ces populations mais que la réponse serait plus lente. Par ailleurs, l'emploi d'espèce de grande taille corporelle dans des conditions contrôlées

serait techniquement très compliqué et limiterait le nombre d'individus employés (augmentant alors les effets de la dérive génétique). La force de sélection appliquée est souvent élevée (i.e. aux alentours de 80-90%) mais elle permet de réduire le temps de réponse des populations et d'observer à long terme l'évolution. Néanmoins, ces pressions de sélection artificielle pourraient refléter les taux d'exploitation élevés (compris entre 45 et 99 %) que subissent certaines populations pêchées (Hutchings 2000).

Un certain nombre d'expériences de sélection artificielle taille-dépendante ont déjà été réalisées et nous allons en présenter quelques-unes effectuées sur des téléostéens (Tableau 2). Une des expériences de sélection artificielle les plus connues est celle réalisée par Conover et ses collaborateurs à partir des années 2000 montrant qu'une forte mortalité taille-sélective génère une évolution rapide de traits biologiques clés chez la Capucette (Menidia menidia). Ils observèrent en seulement 4 générations, que la lignée exploitée pour des tailles corporelles hautes (i.e. lignée L, reproduction des petits individus) avait évolué vers une masse corporelle moyenne plus faible, un taux de croissance plus lent accompagné d'une réduction de la taille d'œufs, de la taille des larves et de leur survie (Conover and Munch 2002; Walsh et al. 2006). Cette expérience est une des premières à mettre en évidence la nature génétique des changements des traits biologiques des poissons en réponse à une pêche taille-dépendante. Une seconde étude de sélection expérimentale a démontré par analyse moléculaire que les changements phénotypiques observés chez les mâles guppys (Poecillia reticulata) avaient pour origine des changements génétiques (van Wijk et al. 2013). Les auteurs montrent que l'âge et la taille à maturité sexuelle sont des traits corrélés à la taille corporelle. Une évolution vers une réduction de la taille corporelle moyenne (lignée L) est associée à une diminution de la taille et à l'âge à maturité. Cette étude est une des premières à pouvoir lier directement des variations à l'échelle moléculaire et à l'échelle des traits soumis à sélection. La dernière expérience de sélection artificielle présentée est celle réalisée par Silva Uusi-Heikkilä et ses collaborateurs (2015). Cette étude montre l'impact direct (sur la taille) et indirect (sur les traits corrélés) de la sélection directionnelle sur la taille corporelle de poissons zèbre (Danio Renio), et l'associe à des changements génétiques moléculaires. Dans cette étude une évolution vers une taille corporelle moyenne réduite (lignée L) est associée à une maturité plus précoce et une fécondité taille spécifique augmentée.

Tableau 2. Résumé de 3 expériences de sélection artificielle bi-directionnelle sur la taille corporelle de téléostéens. \* Indique que le % est calculé par rapport à la population contrôle à la fin de l'expérience.  $h^2$  est l'héritabilité réalisée (moyenne ± écart-type), $\uparrow$  indique une augmentation,  $\downarrow$  une diminution et = indique une évolution équivalente à celle produite dans la population contrôle.

Summary of 3 bidirectional artificial selection experiments on teleosts body size. \* Indicates that the% is calculated compared to the control line at the end of the experiment.  $h^2$  is realized heritability (mean  $\pm$  SD),  $\uparrow$  Indicates an increase,  $\downarrow$  a decrease and = a similar trend to that produced in the control population.

Organisme	Pression de sélection	Génération	h²	Direction de sélection	% de réponse du trait sélectionné*	Autres traits mesurés et réponse par rapport à la population contrôle	
La Capucette (Medinia medinia)	Exploité à 90 %	4	0,198 ± 0,02	Lignée haute (lignée H)	12,5%	<ul> <li>↑ taux de croissance somatique juvénile</li> <li>↑ succès reproducteur : fécondité, volume des œufs, taille des larves, taux de croissance larvaire</li> <li>↑ métabolisme : taux de consommation, potentiel de croissance, de conversion alimentaire</li> <li>↑ habilité à échapper au prédateur, ↑ nombre de vertèbres</li> </ul>	(Conover and Munch
				Lignée basse (lignée L)	-28,5 %	<ul> <li>↓ taux de croissance somatique juvénile</li> <li>↓ succès reproducteur : fécondité, volume des œufs, taille des larves, taux de croissance larvaire</li> <li>↓ métabolisme : taux de consommation, potentiel de croissance, potentiel de conversion alimentaire</li> <li>↓ habilité à échapper au prédateur, ↓ nombre de vertèbres</li> </ul>	2002; Walsh et al. 2006)
Le guppy (Poecillia reticulata)	Exploité à	2	$0,269 \pm 0,032$ $0,199 \pm 0,043$	Lignée haute (lignée H)	9,5 %	$\uparrow$ âge et taille à maturation	(van Wijk et al. 2013)
	80 %	3		Lignée basse (lignée L)	-5,2 %	$\downarrow$ age et taille à maturation	
Le poisson zèbre ( <i>Danio</i> <i>renio</i> )	Exploité à 75 %	£	NA	Lignée haute (lignée H)	0 %	<ul> <li>= taux de croissance somatique juvénile</li> <li>↑ âge à maturation, = taille à maturation, ↓ mortalité instantanée</li> <li>succès reproducteur : ↑ taux de fécondation, ↑ fécondité, ↑ taille des œufs, =</li> <li>taille des larves, ↑ taux d 'éclosion, ↓ temps d'incubation</li> <li>= fécondité taille-spécifique</li> </ul>	(Uusi- Haildrilä at
		75 %	5	5 INA	Lignée basse (lignée L)	-7,8 %	<ul> <li>= taux de croissance somatique juvénile</li> <li>= âge à maturation, ↓ taille à maturation, ↓ mortalité instantanée</li> <li>succès reproducteur : ↓ taux de fécondation, ↓ fécondité, = taille des œufs, =</li> <li>taille des larves, ↑ taux d'éclosion, ↓ temps d'incubation</li> <li>↑ fécondité taille-spécifique</li> </ul>

## 2.2. Le modèle biologique

#### 2.2.1. Caractéristiques du médaka

Le médaka (*Oryzias latipes*; Temminck et Schlegel, 1846), ou poisson des rizières, est un petit poisson dulçaquicole téléostéen qui appartient à l'ordre des Béloniformes et à la famille des Adrianichthyidés. Il est phylogénétiquement proche des cyprinodontiformes, qui comprennent les killies (e.g. top minnow), les poeciliidés (e.g. guppies, gambusies) et les xyphophorus (**Figure 11**; Near et al. 2012; Betancur-R. et al. 2013; Davesne and Lecointre 2015). Cette espèce originaire d'Asie du Sud-Est est caractérisé génétiquement par une forte diversité (Sakaizumi 1986; Takehana et al. 2003; Takehana et al. 2004; Katsumura et al. 2012) et est actuellement divisée en 4 populations, deux aux Japon, une regroupant la Chine et l'Ouest des Corées Nord et Sud, et une située dans l'Est des Corées Nord et Sud (Spivakov et al. 2014; Kirchmaier et al. 2015). Les médakas utilisés pour les expériences proviennent de la population du Sud du Japon (voir section 2.3.1.).

Le médaka est inféodé aux rizières, mares et zones d'eau lentiques (Nakabō 2002) et peu survivre dans des milieux très variables en température (de 0°C à 40°C) et en salinité (espèce euryhaline ; Yamamoto 1975; Shima and Mitani 2004). Il est omnivore, il se nourrit préférentiellement de zooplancton (cladocères et copépodes), d'annélides mais aussi de larves de diptères et de débris benthiques si aucune autre nourriture n'est disponible (Terao 1985; Edeline et al. 2016).



Figure 11: Arbre phylogénétique simplifié présentant les liens entre le genre Oryzias et d'autres genres de poissons employé classiquement en expérimentation aquatique. En gris sont indiqués les principaux clades et ordres, en noir les genres avec pour chacun un nom vernaculaire d'espèce associé entre parenthèse. La longueur des branches n'est pas proportionnelle à la divergence temporelle séparant les groupes.

Simplified phylogenetic tree showing the link between Oryzias genus and other fish genus typically used in aquatic experiments. major clades and orders are in grey, genres in black with for each an associated common species name in brackets. The length of the branches is not proportional to the divergence time between the groups.

Le médaka sauvage est un petit poisson (longueur d'un adulte autour de 32 mm ; Nakabō 2002) globalement gris-brun (les chromatophores majoritaires de sa peau sont les mélanophores et les xanthophores) avec un abdomen bleuté-iridescent (dû à une concentration élevée d'iridophores et de leucophores ; Kinoshita et al. 2009). Le dimorphisme sexuel est peu marqué mais il est détectable sur des poissons de 16 à 24 mm de long (i.e. stade 44, Iwamatsu 2004). Trois caractères sexuels secondaires permettent de différencier les sexes (**Figure 12**; description précise dans Yamamoto 1975) : (1) la nageoire anale ; elle est longue, en forme de parallélépipède avec un petit décrochement postérieur et ses rayons osseux sont ornés de processus papillaires chez le mâle et courte, triangulaire et ses rayons osseux sont bifides aux extrémités mais sans processus papillaires chez la femelle. (2) la nageoire dorsale ; elle est longue et fine avec un décrochement postérieur net chez le mâle et légèrement plus courte et plus épaisse sans décrochement chez la femelle. (3) la papille uro-génitale ; elle est peu développée et bilobée chez le mâle et volumineuse et trilobée chez la femelle. Par ailleurs, lors de la période de reproduction les mâles peuvent arborer des couleurs plus vives (principalement sur les nageoires) et plus brillantes (développement de leucophores sur le corps et les nageoires).

En milieu naturel le médaka vit environ 1 an (Terao 1985; Edeline et al. 2016) et peut commencer à se reproduire à partir de 60 jours après l'éclosion (Hirshfield 1980; Leaf et al. 2011). De mai à août c'est la saison de reproduction pour cette espèce ovipare, les conditions abiotiques (photopériode, température et nourriture) sont réunies pour que les individus matures se reproduisent (Shima and Mitani 2004). Durant cette période, tous les jours à l'aube, les mâles séduisent les femelles par une « danse » qui stimule la ponte d'une vingtaine d'œufs (qui adhèrent à la papille uro-génitale des femelles) et qui sont fécondés extérieurement (Kinoshita et al. 2009). Dans la journée les femelles se débarrassent de leurs œufs en se frottant contre des végétaux, l'éclosion se produit dans un délai de 7 à 10 jours suivant la fécondation. Les femelles matures âgées de 90 jours après l'éclosion (90 dph) seraient les plus productives (maximum d'œufs pondus par jour), et plus le nombre d'œufs pondus est grand, plus le volume moyen des œufs est petit. En moyenne le taux d'éclosion serait de 73 % (Leaf et al. 2011). En laboratoire, le médaka aurait une croissance continue, comme un grand nombre de téléostéens (Ghoneum and Egami 1982; Hatakeyama et al. 2008).



Figure 12: Photographies d'une femelle (A) et d'un mâle (B) de médaka adulte sauvage en vue latérale. En (1) ,la nageoire anale, en (2) la nageoire dorsale et en (3) la forme de la papille uro-génitale sont les caractères sexuels secondaires qui permettent de les différencier.

Pictures of a female (A) and a male (B) of wild adult medaka in side view. (1) the anal fin, (2) the dorsal fin and (3) the shape of the urogenital papilla are secondary sexual characteristics that differentiate them.

#### 2.2.2. Choix du médaka

Le médaka est une espèce dont l'utilisation en laboratoire est courante (i.e. organisme modèle), particulièrement dans les domaines de la biologie moléculaire et de l'éco-toxicologie (Wittbrodt et al. 2002; Kasahara et al. 2007; Kinoshita et al. 2009; Naruse et al. 2011; Kirchmaier et al. 2015) et il pourrait aussi être utilisé couramment en écologie expérimentale. Il possède en effet des caractéristiques qui font de lui un très bon modèle de laboratoire : (1) son génome de faible taille (800 Mpb, Naruse et al. 2004) est entièrement séquencé et présente un haut degré de polymorphisme nucléotidique (Kasahara et al. 2007), (2) des outils de biologie moléculaires sont disponibles (e.g. lignées transgéniques ; Kirchmaier et al. 2015),
(3) son temps de génération est court, (4) sa descendance est nombreuse, et (5) il est facile à maintenir en élevage et demande peu de place. Ces caractéristiques, « d'espèce modèle de laboratoire », sont aussi partagées par le poisson zèbre notamment (Furutani-Seiki and Wittbrodt 2004). En outre, le médaka possède des caractéristiques supplémentaires qui peuvent s'avérer intéressantes en écologie, notamment sa grande résistance aux variations environnementales (température et salinité), sa résistance aux manipulations et sa palette de comportements. Ces attributs sont aussi partagés par les killies, les guppys, les épinoches et les poissons porte-épées (McKinnon and Rundle 2002; Magurran 2005; Cossins and Crawford 2005).

Le médaka, possède donc à la fois les caractéristiques d'une « espèce modèle de laboratoire », et celles des poissons plus couramment employés en écologie expérimentale. Par sa polyvalence, il apparaît alors comme un des meilleurs organismes vertébrés aquatiques pour réaliser des études intégrées en écologie, allant du gène à l'écosystème. C'est dans cette optique que nous avons choisi d'employer ce poisson pour ces expérimentations.

## 2.3. Présentation des protocoles expérimentaux

### 2.3.1. Provenance des médakas sauvages

Les médakas employés pour les expériences sont issus de 100 poissons adultes ( $F_{jap}$ ; **voir Figure 13**) collectés dans la population sauvage de Kiyoshu (Toyohashi, préfecture de Aichi, Japon) en 2011. Il a été montré récemment que cette population sauvage présente une variabilité génétique importante (Spivakov et al. 2014). Les descendants de ces 100 reproducteurs ont été stockés en mésocosmes extérieurs (i.e. bassin de 0,5 m<sup>3</sup>) à la station d'écologie expérimentale et prédictive du CEREEP Ecotron Ile-de-France (<u>http://www.foljuif.ens.fr/</u>). Toutes les expériences réalisées dans cette thèse ont été menées sur le site du CEREEP, en laboratoire (animalerie).



Figure 13: Diagramme présentant les dates auxquelles ont été réalisées les expériences de la thèse et les principales étapes de l'expérience de sélection artificielle bi-directionnelle. Avant la sélection deux générations ont été élevés au laboratoire, elles ont permis de diluer de potentiels effets parentaux et de tester les protocoles de phénotypage. Les trois lignées ont été initiées à partir de la F1 lorsque les poissons avaient 75 dph afin de produire une lignée haute (high), une contrôle (control) et une basse (low). La sélection et les différentes étapes de suivi ont été poursuivies pendant 6 générations.

Diagram showing the dates when the experiments occurred and the main steps of the bidirectional artificial selection experiment. Before selection two generations were raised in the fish facility, to dilute potential parental effects and to test the phenotyping protocols. The three lines were initiated from F1 when fish were 75 dph to produce a high line, a control line and a low line. Selection and the different monitoring steps were continued for 6 generations.

## 2.3.2. L'expérience de cascade trophique

## Les objectifs

La première expérience réalisée avait pour objectifs à la fois d'identifier les conséquences écologiques des variations phénotypiques (i.e. la taille et la forme corporelle) et de quantifier ces effets par rapport à une variation démographique (présente-absence). Les questions spécifiques associées à cette expérience étaient les suivantes :

- Comment la taille corporelle d'un prédateur influence la cascade trophique qu'il induit ?
- Comment la forme corporelle d'un prédateur influence la cascade trophique qu'il induit ?
- Quelles sont les contributions relatives d'un changement de taille corporelle et d'un changement d'effectif dans la cascade trophique ?

Les résultats de cette expérience sont présentés dans le chapitre 3.

### Le principe

Dans une chaîne trophique à trois niveaux (**Figure 14**), comprenant de bas en haut, du phytoplancton (*Scenedesmus* sp.), du zooplancton (95 % *Daphnia pulex* et 5 % *Cyclopidae* sp.) et un médaka, nous avons fait varier à la fois la présence du poisson et sa taille corporelle. Pour comparer les effets des variations morphologiques (i.e. taille et forme corporelle du médaka) et les effets des variations démographiques (i.e. présence ou absence du médaka) dans la chaîne trophique expérimentale, nous avons produit des paires d'aquarium identiques (aquarium de 3 L), variant uniquement par la présence ou l'absence d'un poisson. Ces paires d'aquariums ont été obtenues à l'aide d'un dispositif permettant la séparation d'un échantillon d'eau en deux parties égales (e.g. le splitter). Ainsi une paire d'aquarium était composée de manière identique sur les deux premiers niveaux trophiques (composition et quantité) et seule la présence d'un poisson dans l'un des deux variait. Les poissons des différentes paires étaient de différentes tailles corporelles. Nous avons testé l'effet de 60 médakas (i.e. 120 aquariums au total) de tailles variées (sdl moyenne  $\pm$  écart-type = 23,8  $\pm$  7,5 mm). 24h après que le poisson ait été ajouté aléatoirement dans un des aquariums d'une paire, l'abondance et les tailles corporelles des organismes de chaque niveau trophique ont été quantifiés.



Figure 14: Chaîne trophique expérimentale. De bas en haut : niveau trophique 1, phytoplancton (*Scenedesmus* sp.), niveau 2, zooplancton (95 % de *Daphnia pulex* et 5 % de copépodes cyclopoid), niveau 3, un médaka (*Oryzias latipes*). Chaque aquarium avec une chaîne contenant un poisson avait un aquarium « miroir » contenant une chaîne sans poisson (avec des niveaux 1 et 2 comparable). Après 24h le contenu des aquariums à été comparé afin de connaître l'effet de (1) l'ajout d'un poisson, (2) de sa taille, (3) de sa morphologie.

Experimental food chain. From bottom to top: trophic level 1, phytoplankton (Scenedesmus sp.), Level 2, zooplankton (95% of Daphnia pulex and 5% cyclopoid copepods), Level 3, a medaka (Oryzias latipes). Each aquarium with a food chain containing a fish had a "mirror" aquarium containing a food chain without fish (with comparable levels 1 and 2). After 24 hours, aquarium contents were compared to know the effect of (1) the addition of a fish, (2) its size, (3) its morphology.

#### Les mesures réalisées

Le phytoplancton a été quantifié (en µg de chlorophylle a/L) directement à la fin de chaque bloc d'expérience à l'aide d'une sonde spectrofluorimétrique BBE (FluoroProbe, Moldaenke). La sonde mesure la fluorescence émise par les pigments chlorophylliens à l'aide de diodes électroluminescentes (Beutler et al. 2002). Pour chaque échantillon, 10 mesures ont été enregistrées.

Le zooplancton fixé à l'éthanol (95 %) à la fin de chaque expérience a été quantifié (en nombre d'individus), déterminé (à l'espèce si possible) et mesuré (longueur maximale en mm<sup>2</sup>) à l'aide d'un système d'imagerie numérique, le ZooScan (Hydroptic). Le ZooScan réalise une image hautement résolue de l'échantillon, qui est ensuite traitée par le logiciel Plankton Identifier (Gorsky et al. 2010) afin de détecter, compter et mesurer les particules de l'image semi-automatiquement (création manuelle d'un dossier d'apprentissage des catégories de particules détectables dans les échantillons et vérification manuelle des identifications).

À la fin de chaque expérience, tous les poissons ont été sexés (d'après leurs caractères sexuels secondaires ; voir section 2.2.1 et Figure 12) et pesés (en mg) et photographiés après anesthésie dans un bain de tricaine méthane sulfonate (3g MS222 pour 10 L d'eau). Leur taille corporelle standard, allant de la pointe du museau à l'insertion de la nageoire caudale (sdl en mm), a ensuite été mesurée à partir des photographies en vue latérale à l'aide du logiciel ImageJ (Abràmoff et al. 2004), mesure répétée 3 fois. Je me suis également intéressée au rôle de la forme du corps (conformation par morphométrie géométrique) dans la cascade trophique. Des travaux récents chez le guppy (Poecilia reticulata) suggèrent que des variations de la forme de la tête, indépendamment de la taille corporelle, peuvent être liées à des variations du comportement de prédation (Palkovacs et al. 2011). L'analyse de la conformation des poissons consistait en la numérisation manuelle de landmarks (ou points repères) sur la base de photographies, en vue dorsale et latérale, à l'aide du logiciel tpsDig2 (Rohlf 2010). Ainsi 19 landmarks ont été numérisés en vue latérale et 21 en vue dorsale. Les conformations obtenues ont ensuite été centrées, pivotées et mises à l'échelle de sorte à minimiser la somme des carrés des écarts entre les coordonnées d'un même landmark par superposition procruste généralisée. Cette analyse qui permet de comparer les formes corporelles des individus (i.e. leurs résidus procrustes) a été réalisée à l'aide de la librairie geomorph (Adams and Otárola-Castillo 2013) du logiciel R (R Core Team 2014). À partir de ces résidus procrustes il a également été possible de quantifier l'effet de la forme corporelle hors taille (i.e. hors allométrie).

## 2.3.3. L'expérience de sélection artificielle sur la taille corporelle

#### Les objectifs

La seconde expérience avait pour objectifs de mesurer la réponse évolutive d'un trait

phénotypique sélectionné (i.e. la taille corporelle à un âge donné) et de mesurer les réponses indirectes des traits corrélés. Nous avons également complété cette analyse par l'estimation des conséquences au niveau des populations (i.e. calcul de la fitness) de la sélection tailledépendante. Les questions spécifiques associées à cette expérience étaient les suivantes :

- Quels sont les traits (macroscopique et moléculaire) qui répondent à la sélection (directement et indirectement) ?
- Comment les traits répondent à la sélection ?
- Comment les changements de traits impactent la fitness moyenne des populations en laboratoire ?

Les résultats de cette expérience sont présentés dans le chapitre 4.

## Les caractéristiques de l'élevage

Les médakas ont été élevés dans une animalerie d'après les conseils techniques fournit dans « Medaka biology, management, and experimental protocols » (Kinoshita et al. 2009). Les poissons ont été maintenus par famille (i.e. issus de même reproducteur) de 10 à 20 individus dans des aquariums de 3L (voir Figure 15) alimentés en eau par circuit fermé (50 % eau osmosée, 50 % eau du robinet) de leur naissance jusqu'au dernier point de suivi (de 0 à 75 jours après l'éclosion, dph). Cet élevage en groupe permettait de garder un comportement naturel chez ces poissons grégaires. La pièce était maintenue à une température moyenne de 26°C et sous une alternance de cycle diurne-nocturne de 14:10h afin de favoriser la reproduction. Les médakas étaient nourris *ad libitum* 1 fois par jour (9h, 12h, 16h, 20h), tous les jours, avec de la nourriture sèche (Marin start, Le Gouessant Aquaculture, France; granulométrie variant avec l'âge des poissons) et 1 fois par jour, 5 jours par semaine, avec de la nourriture vivante (i.e. des nauplii d'*Artemia salina* et/ou des microvers *Turbatrix aceti*).

## Le principe de la sélection bi-directionnelle et sa mise en œuvre

Les pressions de sélection anthropiques sur la taille corporelle sont majoritairement directionnelles (i.e. elles favorisent des valeurs de tailles corporelles extrêmes dans une direction). Afin de mimer ces pressions et de déterminer les mécanismes physiologiques et génétiques déterminant le trait soumis à sélection, la sélection artificielle appliquée ici est bi-

directionnelle. Elle a pour objectif de sélectionner le même trait mais dans des directions opposées en parallèle dans 2 populations distinctes ayant la même origine. Une population contrôle permet d'observer les variations du trait non soumis à la sélection sur la taille au cours du temps. Nous avons choisi de ne pas répliquer les lignées afin d'augmenter leur effectif (i.e. augmenter la taille efficace) et ainsi de limiter l'apparition d'une réponse aléatoire qui aurait pour origine une forte dérive génétique ou une dépression de consanguinité.



Figure 15: Dispositif d'élevage. En haut à gauche animalerie vue de l'extérieur, en bas à gauche, médaka nageant dans un des aquariums, à droite, une des étagères contenant les aquariums (3 L). Chaque aquarium correspond à une famille (i.e. frères-sœurs).

Breeding facility. At the top left outside picture of the facility, At the bottom left, a medaka swimming in an aquarium, at the right, one of the shelves containing aquariums (3 L). Each aquarium corresponds to a family (i.e. siblings).

#### Initiation des lignées

Après deux générations de croisements aléatoires (F-1 et F0, voir Figure 13), permettant de minimiser les effets parentaux (principalement grands-maternels et maternels), les lignées (haute=H, basse=L et contrôle=C) ont été initiées (F1) lorsque les poissons avaient 74,8  $\pm$  1,4 dph (moyenne ± écart-type). Parmi 30 familles une sélection bi-directionnelle sur la sdl moyenne (i.e. à la famille) a été initiée pour obtenir les reproducteurs des lignées hautes et basses (Figure 16). Ce régime de sélection au niveau des familles et à l'individu (voir (Lush 1947)) représenterait mieux le régime de sélection appliqué dans les populations naturelles exploitées car les individus apparentés auraient tendance à se regrouper en milieu naturel (Ward and Hart 2003). La sélection familiale était basée sur les mesures des sdl individuelles à  $55.5 \pm 1.5$  dph (moyenne  $\pm$  écart-type). Les 10 familles avec les sdl moyennes les plus hautes ont été sélectionnées pour donner les individus reproducteurs de la lignée H; les 10 familles avec les sdl moyennes les plus faibles pour donner les individus reproducteurs de la lignée L. Les 10 familles donnant les individus reproducteurs de la lignée C ont été choisies aléatoirement parmi les 30 familles de sorte que certaines familles pouvaient être à l'origine de reproducteurs d'une des lignées sélectionnées et de la lignée C. Dans chacune des familles retenues (10 par lignée), 2 individus de chaque sexe (ou 4 individus de chaque sexe dans les familles où des reproducteurs de la lignée contrôle devait être également pris) ont été choisis aléatoirement afin de former 20 couples pour chacune des lignées. Les poissons reproducteurs ont été croisés de manière à minimiser leur taux d'apparentement à l'aide du pedigree.



Figure 16: Initiation des lignées à la génération F1. Chaque case correspond à une famille. Selon la sdl moyenne (axe horizontal), 10 familles sont choisit pour initier chaque lignée, les 10 plus petites pour la lignée basse (lignée L) en bleu, les 10 plus grandes pour la lignée haute (lignée H) en rouge et 10 familles au hasard pour la lignée contrôle (lignée C) en gris. Des familles ont pu donner des reproducteurs de la lignée contrôle et d'une des lignées basse ou haute. F pour femelle et M pour mâle.

Lines initiation in the F1 generation. Each box corresponds to a family. According to the average sdl (horizontal axis), 10 families were chosen to initiate each line, the 10 smallest for the low line (line L) in blue, the 10 largest for high line (H line) in red and 10 families chosen randomly for the control line (line C) in gray. Some families could provide breeders for the control line and an other line (low or high line). F for female and M for male.

#### Sélection

De F2 à F4 et F7, au sein de chaque lignée, une sélection directionnelle sur la sdl moyenne (i.e. à la famille) puis sur la sdl individuelle a été réalisée pour obtenir les individus reproducteurs (**Figure 17**). Les familles contenant moins de 10 individus au moment de la sélection familiale (i.e. 60 dph) ont été écartées afin d'éviter la propagation de gènes impliqués dans une faible survie et pour conserver une pression de sélection forte (au moins 60 % des individus d'une famille ne se reproduisent pas). Pour la lignée haute, les 10 familles avec les sdl moyennes les plus hautes ont été sélectionnées, pour la lignée basse, les 10 familles avec les sdl moyennes les plus basses, et pour la lignée contrôle 10 familles sont retenues aléatoirement. Dans chacune des familles retenues (10 familles par lignée), 2 mâles et 2 femelles ont été choisi selon la lignée : les 2 mâles et 2 femelles les plus grands ont été retenus pour la lignée H, les plus petits pour la lignée L et aléatoirement pour la lignée C.

Cette sélection individuelle permettait de former 20 couples reproducteurs par lignée. Les croisements étaient réalisés de manière à minimiser le taux d'apparentement entre individus.



Figure 17: Sélection dans chaque lignée de F2 à F4 et en F7. Chaque case correspond à une famille. 10 familles sont choisit pour continuer chaque lignée, les 10 plus petites pour la lignée basse (lignée L), les 10 plus grandes pour la lignée haute (lignée H) et 10 familles au hasard pour la lignée contrôle (lignée C). F pour femelle et M pour mâle.

Selection in each line from F2 to F4 and F7. Each box corresponds to a family. 10 families are chosen to continue each line, the 10 smallest for the low line (line L), the 10 largest for high line (H line) and 10 families randomly to the control line (line C). F for female and M for male.

En F5 et F6, nous avons souhaité augmenter le différentiel de sélection afin d'augmenter potentiellement la réponse à la sélection. Au sein des lignées une sélection directionnelle sur la sdl individuelle a été réalisée pour obtenir les individus reproducteurs sans sélectionner sur la sdl moyenne de la famille. Comme précédemment, les familles contenant moins de 10 individus à 60 dph ont été écartées. Dans les autres familles, les 10 mâles et les 10 femelles ont été choisi selon la lignée : les 10 mâles et les 10 femelles les plus grands ont été sélectionnés pour la lignée H, les plus petits pour la lignée L et aléatoirement pour la lignée C. Afin d'éviter les croisements frères-sœurs nous avions limités la prise d'individu d'une même famille à 8. L'augmentation du différentiel de sélection n'a pas permis d'augmenter la réponse à la sélection, nous avons donc choisi de revenir au protocole de sélection initial en F7.

### Les mesures réalisées

### Présentation des traits suivis

Afin d'estimer la réponse à la sélection de la taille corporelle et celles qui lui sont potentiellement corrélées, nous avons mesuré un certain nombre de traits phénotypiques à chaque génération. Ces mesures ont toujours été enregistrées autour d'un même âge (en dph), un phase de phénotypage, pour faciliter les comparaisons entre générations (voir ci-dessous le détail). Pour 4 phases de phénotypage tous les poissons ont été suivis : à 0 (éclosion), à 15, 60 et 75 dph. Pour 1 phase de phénotypage, quelques poissons ont été sacrifiés pour des mesures phénotypiques moléculaires : à 40 dph. Enfin 1 phase de phénotypage supplémentaire a été réalisée pour les reproducteurs afin d'obtenir des paramètres de la reproduction (e.g. fécondité, voir ci-dessous le détail) : à 90 dph.

Nous avons suivi :

(1) le trait sélectionné

• La taille corporelle des individus matures à 75dph (trait sélectionné)

(2) la croissance somatique

• La courbe de croissance somatique moyenne par famille (à partir des phénotypage de la sdl et de la masse à 0, 15, 40, 60 et 75 dph)

(3) les traits biologiques reliés à la reproduction

- Les ogives de maturation moyenne par famille (i.e. maturité sexuelle en fonction de la taille et de l'âge ; à partir des phénotypages à 60 et 75 dph)
- Le taux de survie familial précoce (entre 0 et 15 dph) et tardif (entre 15 et 75 dph) (le nombre de poissons au phénotypage t sur le nombre de poissons au phénotypage t-1)
- La fécondité des femelles (nombre moyen d'œufs pondus par jour de récolte ; à 90 dph)

- La taille des œufs (diamètre moyen des œufs pondus par une femelle, à 90 dph)
- Le temps d'incubation des œufs (temps écoulé entre la moyenne pondérée des dates de pontes et la moyenne pondérée des dates d'éclosion)
- Le taux d'éclosion (nombre de larves récoltés sur le nombre d'œufs récoltés)
- La taille des larves à l'éclosion (à 0 dph)

(4) l'expression de gènes codant pour des neurohormones hypophysaires (hormone de croissance et gonadotropines)

• La concentration en mRNA pour des individus âgés de 40 dph

## Mesures phénotypiques macroscopiques

Les poissons n'ont pas pu être marqués individuellement d'un âge à l'autre. L'âge des individus correspondait donc à l'âge moyen familial à la date du phénotypage calculé à partir de la moyenne pondérée des dates de naissances<sup>2</sup>.

La taille corporelle standard (sdl en mm) a été mesurée à l'aide du logiciel ImageJ (Abràmoff et al. 2004) à partir de photographies (**Figure 18**) en vue latérale (40, 60, 75 et 90 dph) ou dorsale (à 0 et 15 dph). Les poissons ont été manipulés sous anesthésie dans un bain de MS222 sauf à 0 et 15 dph.

Les poissons ont été sexés (d'après leurs caractères sexuels secondaires ; **voir section 2.2.1 et Figure 12**) à chaque phénotypage. À 0 et 15 dph aucun individu mature (i.e. mâles ou femelles) ont été détectés.

2 Exemple : Si pour une même famille 3 poissons sont nés le 10 mars, 2 le 11 mars et 4 le 12 mars, l'âge moyen des individus au 30 mars est :  $30 - \frac{3 \times 10 + 2 \times 11 + 4 \times 12}{3 + 2 + 4} = 18,9 \, dph$ 



Figure 18: Exemple de photographie des poissons à chaque phénotypage. En haut à gauche : à 0 dph, en haut à droite : à 15 dph , en bas à gauche : à 60 dph, et en bas à droite : à 75 dph.

Example pictures of fishes at each phenotyping. At the top left: 0 dph, top right: 15 dph, bottom left: 60 dph, and bottom right: 75 dph.

La masse corporelle des individus a été enregistrée (en mg) au phénotypage 40 dph (sur les individus disséqués) et 75 dph.

À 75 dph les poissons ont été sélectionnés puis mis en couple jusqu'au début de la récolte des œufs à 90 dph (88 à 92 dph). Pour chaque couple (i.e. 20 couples par lignée), chaque ponte prélevée a été photographiée pour permettre le dénombrement des œufs et mesurer leur taille (diamètre en mm) semi-automatiquement avec le logiciel ImageJ. Les pontes issues d'un même couple ont été incubées ensemble (**Figure 19**).



Figure 19: Photographies du phénotypage des pontes et de leur incubation. En (A) exemple de photographie d'une ponte en (B) détection semi-automatique des œufs, en (C) dispositif d'incubation.

Egg phenotyping and incubation pictures. (A) example of a clutch, (B) semi-automatic detection of eggs, (C) incubation device.

### Mesures phénotypiques moléculaires

Afin d'explorer les mécanismes moléculaires qui pourraient être impliqués dans des modifications de la croissance somatique et de la maturation sexuelle nous avons quantifiés les niveaux d'expressions de gènes candidats. Chez les vertébrés, le contrôle de la croissance et de la reproduction sont assurés par l'axe cerveau-hypophyse-organe cible (Canosa et al. 2007; Zohar et al. 2010). Le cerveau intègre et centralise des signaux externes (e.g. température, luminosité) et internes (e.g. accumulation suffisante de réserves) qui influencent les fonctions de croissance et de reproduction. L'hypophyse relaie les informations et les amplifie à la suite de stimulii provenant du cerveau, via la production en quantités adéquates d'hormones

hypophysaires. Les organes cibles sont pourvus quant à eux de récepteurs membranaires spécifiques qui permettent de produire une réponse adaptée aux messagers endocrines. Le gène de l'hormone de croissance (GH) produite par l'hypophyse semble être un bon gène candidat pour étudier la régulation des mécanismes adaptatifs qui peuvent survenir en réponse à une pression de sélection sur la taille corporelle (De-Santis and Jerry 2007). La GH est une hormone peptidique pléiotrope qui intervient dans de nombreuses fonctions reliées directement ou indirectement à la croissance somatique. Elle peut en effet agir directement via des récepteurs exprimés dans les muscles squelettiques par exemple mais aussi indirectement en stimulant la production de facteurs de croissance (IGFs) dans le foie. Chez les téléostéens, la GH stimule la division cellulaire, l'appétit, la croissance squelettique, la synthèse des protéines, ou encore, l'oxydation des graisses (Mommsen 2001). Par ailleurs elle est aussi impliquée dans le développement des gonades (Le Gac et al. 1993). Les IGFs peuvent agirent en retour sur le cerveau et l'hypophyse pour diminuer la production de GH et maintenir une croissance homéostatique (Rousseau et al. 1998; Rousseau and Dufour 2007).

Nous avons également choisi de quantifier les niveaux d'expression de deux gènes codant pour deux hormones gonadotropes, l'hormone folllico-stimulante (FSH) et l'hormone lutéinisante (LH) impliquées dans la reproduction (Charlton 2008; Zohar et al. 2010). Ces hormones glycoprotéiques sont hétéro-dimériques et possèdent une sous-unité commune ( $\alpha$ ) et une sous-unité spécifique ( $\beta$ ), celle qui est quantifiée (Pierce and Parsons 1981). Ces hormones hypophysaires agissent directement aux niveaux des gonades en régulant leurs activités, incluant la gamétogénèse, la stéroïdogénèse et la production de peptides gonadiques. Chez les téléostéens la FSH serait associée à (1) la croissance et au recrutement des follicules ovariens et à la production d'estradiol par les ovocytes en vitellogénèse chez les femelles et (2) à la stimulation de la stéroïdogénèse et de la spermatogénèse chez les mâles. Par ailleurs la FSH serait associée aux phases finales de la gamétogénèse, à (1) l'ovulation et la maturation ovocytaire chez les femelles et (2) la spermatogénèse chez les mâles.

À chaque génération (de F1 à F7) 30 à 45 médakas jeunes (10 à 15 par lignée) âgés de  $42 \pm 1.6$  dph (moyenne  $\pm$  écart-type) ont été sacrifiés par une dose létale de MS222. L'âge du prélèvement de ces individus a été définit par rapport aux connaissances que nous avions sur le début de la reproduction. Le but était de pouvoir observer des changements dans la maturité sexuelle entre les lignées. Les individus ont été prélevés aléatoirement dans les familles de

chaque lignée. En F7, 60 médakas adultes (20 par lignée) âgés de  $89 \pm 0.8$  dph (moyenne  $\pm$  écart-type) ont également été euthanasiés. En plus du suivi phénotypique macroscopique présenté précédemment (pour 40 dph), les poissons ont été sexés d'après l'aspect de leur gonades pendant la dissection. Les hypophyses ont ensuite été prélevées sous loupe binoculaire et conservées dans 250 µl de Trizol (Invitrogen, Life Technologies) à -20°C jusqu'aux dosages des transcrits. En prévision d'analyses complémentaires d'autres organes ont été prélevées et conservés dans 500 µl de RNAlater (Invitrogen, Life Technologies) à -20°C : le cerveau, le foie, les gonades et du tissu musculaire.

Les acides nucléiques ont été extraits à partir des échantillons d'hypophyses homogénéisés (agitation au vortex 15sec) selon les consignes du fabricant de l'agent d'extraction (Invitrogen, Life Technologies). Les RNA totaux ont été isolés par digestion des échantillons d'acides nucléiques mis en suspension dans 10 µl d'eau sans RNAse (RNAse-free water) à la DNAse I (Dnase I recombinant RNAse-free, Roche Diagnostics) à 37°C pendant 20 min puis 15 min à 70°C (thermocycleur Conventional PCR, BIO-RAD).

Ensuite les RNA totaux ont été rétro-transcrits en cDNA simple brin à partir de 5µl d'RNA totaux grâce à la RT Superscript III (RT Superscript III First Strand cDNA Synthesis Kit; Invitrogen, Life Technologies) à 25°C pendant 5 min puis à 50°C pendant 60 min et enfin 15 min à 70°C (thermocycleur Conventional PCR, BIO-RAD).

À partir des cDNA, l'expression des gènes d'intérêts a été mesurée par PCR quantitative. Cette méthode permet d'évaluer le niveau d'expression d'un gène cible, tout au long d'une chaîne d'amplification, par quantification spécifique d'acide nucléique présent dans un échantillon. À chaque cycle de la réaction d'amplification, la quantité de cDNA formée peut être suivie grâce à l'utilisation d'un intercalant fluorescent, le SYBR green. Une fois lié au DNA double brin, il émet une lumière fluorescente détectée par le spectro-fluorimètre intégré au thermocycleur. La quantité de lumière détectée est proportionnelle à la quantité d'ADN synthétisée. La concentration en mRNA peut donc être calculée, elle est inversement proportionnelle au nombre de cycles d'amplification nécessaire pour atteindre le seuil de détection de fluorescence. Plusieurs couples d'amorces spécifiques (i.e. primer) aux transcrits ciblés (i.e. GH, FSH $\beta$  ou Lh $\beta$  et un gène de référence, l'actine- $\beta$ , (ACT $\beta$ ), ont été testés sur un pool d'hypophyse de médaka adultes (cf. standard). Ces tests ont permis de choisir le meilleur couple d'amorce (i.e le plus spécifique d'après les courbes de fusion et le plus efficace d'après

les dilutions sériées du standard) et de produire les courbes d'amplifications de références du standard dans des conditions de manipulations standardisées (dilutions sériées du standard). Les réactions ont été réalisées dans un thermocycleur spécifique (LightCycler®; Roche Diagnostics) à partir de 4 µl d'échantillon d'ADNc dilué (1:10) avec chaque couple d'amorce concentré à 500nM à l'aide du kit d'amplification LightCycler® FastStart Master plus SYBR Green I (Roche Diagnostics). Les conditions d'amplifications étaient les suivantes : 95°C pendant 10 min suivi par 50 cycles d'amplification à 95°C pendant 5 sec, 60°C pendant 10 sec et 72°C pendant 5 sec. Le niveau d'expression relatif d'ARNm contenu dans chaque échantillon a été quantifié en double à partir des valeurs seuils d'amplification (Ct) reportées aux courbes d'amplifications de références. Afin de s'affranchir des performances de l'extraction et la taille de l'hypophyse prélevée, spécifique à chaque échantillon, le niveau d'ARNm a été également normalisé par rapport au niveau d'expression d'un gène de référence dans chaque échantillon.

# Chapitre 3 : Cascade trophique

Chapitre 3 : Cascade trophique | 89

## Résumé du chapitre 3

La perte de biodiversité induite par l'Homme affecte principalement les populations en sommet de réseau trophique et peut avoir des effets en cascades dans tous les grands biomes terrestres et aquatiques. Ces cascades trophiques peuvent être définies comme les propagations, aux niveaux trophiques inférieurs, des perturbations qui touchent les populations en sommet de réseau. En parallèle, un nombre croissant d'études ont montré qu'avant l'extinction, les populations seraient capables de s'adapter en réponse aux pressions de sélection anthropique contre les grands individus. En particulier, ces études montrent une évolution rapide des tailles corporelles des consommateurs de sommet de réseau trophique vers des tailles réduites. Or, la taille corporelle est un déterminant majeur des interactions trophiques et des performances de prédation : une plus petite taille chez les prédateurs réduit leur taux de consommation mais aussi la variété des proies consommées. L'évolution rapide des traits d'histoire de vie pourrait donc contribuer à réguler les cascades trophiques. Cependant, à ce jour, les effets en cascade restent attribués à la diminution des abondances des populations de sommet de réseau trophique (i.e. effet densité-dépendant), sans considération pour le rôle possible des variations de la taille, ni à d'autres traits qui lui seraient potentiellement corrélés (i.e. effet trait-dépendant).

L'objectif de cet article est de contribuer à combler cette lacune en étudiant expérimentalement les effets traits-dépendants (taille et forme corporelle) et les effets densitédépendants (présence ou absence) d'un médaka dans une chaîne trophique à trois niveaux (médaka – zooplancton – phytoplancton). Nous montrons que la variation de la taille corporelle d'un médaka (entre un poisson de 11.5 mm et un poisson de 36.3 mm) induit une cascade trophique plus forte que la variation de la présence-absence d'un médaka de taille corporelle moyenne (23.8 mm). L'effet de la taille corporelle du médaka sur l'abondance du zooplancton est pratiquement linéaire, ce qui souligne que la cascade trophique est induite par des variations morphologiques (et non métaboliques). Nous montrons également que les effets de la taille corporelle du médaka sont amplifiés le long de la chaîne trophique (i.e. effet plus fort du poisson sur le phytoplancton que sur le zooplancton). Par contre nos résultats suggèrent que la forme corporelle du poisson non allométrique (i.e. forme sans l'effet de la taille) n'a pas d'effet sur ses performances de prédation. L'ensemble des résultats de cette expérience souligne l'importance de prendre en compte les effets traits-dépendants dans les réseaux trophiques. Les activités humaines conduisant non seulement à la diminution des abondances des prédateurs de sommet de réseau mais également à des changements phénotypiques dont une diminution de leurs tailles corporelles, il semble essentiel d'intégrer les deux aspects de l'érosion de la biodiversité (i.e. diminution des abondances et des tailles) dans l'étude de ses conséquences sur le fonctionnement des écosystèmes et les services écosystémiques qui en résultent.

## 3.1. Article : « Morphological drivers of trophic cascades »

## Morphological drivers of trophic cascades

## Clémentine Renneville, Arnaud Le Rouzic, Michel Baylac, Alexis Millot, Stéphane Loisel and Eric Edeline

C. Renneville (clementine.renneville@etu.upmc.fr) and S. Loisel, CNRS/Sorbonne Universités/UPMC Univ Paris 06/INRA/IRD/Paris Diderot Univ. Paris 07/UPEC/Inst. d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement – Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, FR-75252 Paris, France. – A. Le Rouzic, CNRS/Univ. Paris-Sud/IRD/Univ. Paris-Saclay/Evolution, Génomes, Comportement, Ecologie (EGCE), Avenue de la Terrasse, FR-91198 Gif-sur-Yvette, France. – M. Baylac, MNHN/CNRS/UPMC Univ. Paris 06/EPHE/Inst. de Systématique, Evolution, Biodiversité (ISYEB), 45 rue Buffon, FR-75005 Paris, France, and: MNHN/CNRS/Outils et Méthodes de la Systématique Integrative (OMSI), 45 rue Buffon, FR-75005 Paris, France. – A. Millot, ENS/CNRS/CEREEP Ecotron Île-de-France, 78 rue du Château, FR-77140 Saint Pierre-lès-Nemours, France. – E. Edeline, Sorbonne Universités/UPMC Univ Paris 06/CNRS/INRA/IRD/Paris Diderot Univ Paris 07/UPEC/Inst. d'Ecologie et des Sciences de l'Environnement – Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, FR-75252 Paris, France.

Worldwide, local anthropogenic extinctions have recently been reported to induce trophic cascades, defined as perturbations of top consumers that propagate along food chains down to primary producers. This focus on the effects of top-consumer extinction (i.e. of species presence) ignores potential cascading effects of the rapid morphological changes that may precede extinction. Here, we show in an experimental, three-level food chain including medaka fish, herbivorous zooplankton and unicellular algae that varying body length of a single fish from large (36.3 mm) to small (11.5 mm) induced a stronger trophic cascade than varying an average-sized (23.8 mm) fish from being present to absent. The strength of fish predation on zooplankton scaled quasi linearly (not with a power exponent) with fish body length and associated gape width, suggesting that the resultant trophic cascade was morphology (not metabolism)-dependent. The effect of fish body length was stronger on phyto- than on zooplankton, because large-sized fish had the unique ability to suppress large-sized herbivores, which in turn had high grazing capacities. Hence, our results show that consumer body size, by setting diet breadth, can both drive and magnify the strength of trophic cascades. In contrast, fish body shape had no significant effect on fish predatory performances when its allometric component (the effect of size on shape) was removed. In the wild, human-induced body downsizing of top consumers is widespread, and mitigating the resultant perturbations to ecosystem function and services will require a paradigm shift from preserving species presence towards preserving species size structure.

Biodiversity loss caused by human activities is not random, but mainly affects large vertebrates at the top of trophic networks (Duffy 2003). In the impacted populations, collapse is often preceded by rapid changes in phenotypic traits (Olsen et al. 2004, Palkovacs et al. 2012). Best documented is a rapid adaptive change towards smaller body sizes, as demonstrated in exploited populations of fish (Olsen et al. 2004, Edeline et al. 2007, Darimont et al. 2009), mammals (Coltman et al. 2003) and plants (Law and Salick 2005). At the ecosystem level, exploitation generates anthropogenic trophic cascades - ATCs - (Daskalov et al. 2007, Estes et al. 2011) which refer to indirect effects of perturbation to top consumers cascading along food chains down to primary producers (Carpenter and Kitchell 1993). In food chains with odd numbers of species (e.g. three-level food chains), top predators release primary producers from herbivore control, while in even food chains top predators favour the control of primary producers by herbivores (Oksanen et al. 1981).

Despite an early recognition of the importance of largesized herbivores to the very existence of trophic cascades in lakes (Carpenter and Kitchell 1993), trophic cascade ecology often remains centred around studying the effects of local top consumer extinction (i.e. presence versus absence), and ignores potential for trait-dependent effects (Bolker et al. 2003, Persson et al. 2003, Werner and Peacor 2003). For instance, ATCs remain generally ascribed to local extinctions of top consumers in all of the world major biomes (Estes et al. 2011). Similarly, experimental studies on trophic cascades almost exclusively vary presence versus absence of top predators (Hulot et al. 2014 but see Lazzaro et al. 2009), and ATCs in marine systems are ascribed to declining toppredator densities with no consideration for the role of size truncation resulting from size-biased mortality (Daskalov et al. 2007, Baum and Worm 2009, Estes et al. 2011).

However, traits are key drivers of predatory performances. In particular, metabolic rates scale with body mass to a power exponent such that attack rates increase and handling times decrease with an increasing body size, while in parallel gape width and diet breadth increase linearly (Peters 1983, Woodward et al. 2005, Barneche et al. 2014). Therefore, there is a high potential for anthropogenic body downsizing per se to lower the strength of predator-prey links and to drive size-dependent ATCs (Persson et al. 2003).

Accordingly, Shackell et al. (2010) recently showed that body-downsizing caused by commercial fishing in populations of predatory fish induced an ATC in the Northwest Atlantic, despite that the biomass of predators remained constant, i.e. despite that predator numbers actually increased. Given that metabolism, including feeding rate, scales with body mass to a power exponent lower than one (often with a 3/4 exponent, Peters 1983, Woodward et al. 2005, Barneche et al. 2014), increased numbers of smaller-sized predatory fish should result in an overall increased prey consumption (see Supplementary material Appendix 1 for a formal demonstration). In contrast, the observed trophic cascade in the northwest Atlantic shows a relaxed predation pressure from predatory fish (Shackell et al. 2010). Therefore, the ATC in northwest Atlantic was not density- or physiology (metabolism)-dependent, but was instead size (morphology)dependent. This important observation, made on a large natural system, urgently calls for an improved understanding of the mechanisms driving size-dependent trophic cascades, and for a quantification of the relative contributions of consumer presence versus body size to the strength of trophic cascades. Unravelling these mechanisms and quantifying these relative contributions in an experimental setting was the first aim of our study.

The second aim of our study was to disentangle the relative contributions of length, shape and allometry (shape explained by length) in driving the size-dependency of trophic cascades. Many fish species present distinct body shapes associated with distinct trophic specializations called pelagic (limnetic) versus benthic morphs in lacustrine habitats (Robinson and Wilson 1994). Human predators may induce changes in body shape and the trophic morphology of impacted populations, and thus potentially alter resource use and drive shape-mediated ATCs (Haas et al. 2010, Franssen 2011). For instance, in the guppy Poecilia reticulata presence of large-sized predators (mimicking guppy exploitation by humans) induces subtle evolutionary changes in food acquisition strategies towards reduced consumption of algae and detritus and increased consumption of invertebrates (Zandonà et al. 2011). These changes in prey selectivity seem correlated with changes in guppy head shape (Palkovacs et al. 2011). However, body shape is generally linked to body length through an allometric component (Gould 1966), and failure to account for this allometry may erroneously ascribe to shape effects that are in fact size-dependent. Here, we explicitly separate the allometric and non-allometric components of shape to study their relative effects on predatory performances.

Specifically, we used an experimental, three-level food chain in which we varied in parallel both presence and body size of medaka fish *Oryzias latipes* (the top predator), and measured the resultant cascading effects on its herbivorous zooplankton prey and on unicellular algae grazed by zooplankton. We found that fish body size, but not shape without allometric component, drove the strength of the trophic cascade by setting the strength of predation experienced by large-sized herbivore, which in turn were the most efficient grazers.

## Material and methods

#### **Experimental fish**

Medaka is a small freshwater fish from southeast Asia. Its small size (25-35 mm as adult), extreme resistance to environmental changes (temperature and salinity) and to manipulations make medaka an ideal model organism in biology (Kinoshita et al. 2009, Kirchmaier et al. 2015). In the wild, medaka inhabit stagnant and relatively shallow water (e.g. rice fields and irrigation canals). It feeds preferably on zooplankton (cladocerans and copepods) but also on annelids, larvae of Dipterans and even on macroalgae (filamentous algae or *Closterium* sp.) and benthic detritus when no other food is available (Terao 1985). Recently, it was shown that medaka from different populations of the Nagano Prefecture in Japan exhibit covariation between predatory behaviour (tendency to feed on surface versus benthic food items) and body shape (Iguchi and Kitano 2008), and that predation efficiency of adult medaka (Standard body length measured from the snout to the base of the caudal fin - SL - ranging from 26 to 36 mm) on *Daphnia pulex* may be dependent on Daphnia body size (Mano and Tanaka 2012). These studies suggest that medaka is a particularly good model predator to explore trait-dependent trophic interactions.

The medaka used for the present experiment (SL ranged from 11.5 to 36.3 mm, mean  $\pm$  SD = 23.8  $\pm$  7.5 mm) descended from 100 wild medaka caught in Kiyoshu (Toyohashi, Aichi Prefecture, Japan) in 2011, and stocked in artificial, outdoor ponds at CEREEP Ecotron Île-de-France near Paris, France (<www.foljuif.ens.fr>). In the artificial ponds, medaka naturally feed on zooplankton and invertebrate communities and reproduce from May to August. Here, we used fish sampled from a pond in February, and acclimatized to laboratory conditions during one week prior to the experiments.

#### **Behavioural assays**

Experiments were conducted at  $24 \pm 1$  °C under artificial light conditions (12 h-light:12 h-dark cycle). We used 60 aquaria (vol = 1 l) containing initially a two-level food chain with phytoplankton (*Scenedesmus* spp.) and herbivorous zooplankton sampled in a nearby natural pond (95% *Daphnia pulex* – hereafter *Daphnia* – and 5% cyclopoid copepods present in both nauplius and copepodite stages). We generated pairs of identical aquaria (n = 30 pairs per experiment) using a plankton splitter, which separates a parent sample of live plankton in twin samples (see photography in Supplementary material Appendix 2 Fig. A1).

A pilot methodological experiment showed that the plankton splitter generated identical algal concentrations, *Daphnia* counts and copepod counts in the two aquaria of a given pair (see analyses in Supplementary material Appendix 2 and script in Appendix 9). Hence, by generating no within-pair (i.e. between-treatment) variance in counts but only between-pair (i.e. within-treatment or residual) variance, our splitting method was conservative regarding the mean estimate of treatment effect on counts, and could have only decreased (not increased) the ratio between explained deviance and residual deviance in our ANOVAs (i.e. no added risk of false positive in models 1–3, Table 1). Note that

Table 1. Summary of the statistical models used to test presence- versus size-dependent effect of medaka on the food chain. Coefficient values were estimated against the intercept reference levels that represent zooplankton counts (log scale) or phytoplankton concentration when fish was absent in experiment 1 (model 1–3), predation probability on the smallest size class of *Daphnia* by the smallest sized fish (logit scale, model 4), predation probability on nauplius larvae in experiment 1 (logit scale, model 5), or grazing probability on phytoplankton in experiment 1 when the smallest sized fish was present (logit scale, model 6). In model 3 and 6, main effects (a and b) are from a model without an interaction term (by definition, main effects are without the added effect of an interaction). Fish length unit is mm, *Daphnia* size class unit is mm<sup>2</sup>. (:) indicates interaction between two predictors. (\*) indicates overdispersed models, (¥) indicates that model 3 included residual heteroskedasticity as an exponential function (varExp within the gls function of the nlme library, Pinheiro et al. 2012) of fitted values  $v_i$ ;  $var(\epsilon_i) = \sigma^2 \exp (2\delta v_i)$  where  $\epsilon_i =$  residuals and  $\sigma^2 =$  variance of the normally-distributed residuals, as estimated with no heteroskedastic structure (Pinheiro and Bates 2000).

Model	Trophic level	Response	Distribution	Link	Predictors	Coefficient value	Statistic value	p-value	Pseudo-R <sup>2</sup>
1	Zooplankton	Daphnia count (n = 360)	Poisson*	log	intercept experiment 2 fish presence Daphnia size class	3.80 1.14 -1.40 -6.70	t = 20.50 F = 38.04 F = 53.35 F = 58.14	p < 0.001 p < 0.001 p < 0.001 p < 0.001	0.44
2	Zooplankton	copepods count $(n = 240)$	Poisson*	log	intercept experiment 2 fish presence	0.62 2.06 -1.26	t = 3.84 F = 237.95 F = 115.38	p<0.001 p<0.001 p<0.001	0.68
3	Phytoplankton	phytoplankton concentration (n = 1,200)	Gaussian <sup>¥</sup>	identity	intercept experiment 2 (a) fish presence (b) a:b	75.67 -70.77 9.73 -9.35	t = 72.00 F = 4631.00 F = 328.00 F = 18.00	p < 0.001 p < 0.001 p < 0.001 p < 0.001	0.80
4	Zooplankton	predation probability on <i>Daphnia</i> (n = 180)	binomial*	logit	intercept fish length <i>Daphnia</i> size class	-4.51 0.30 -11.75	t = -11.74 F = 379.99 F = 32.90	p < 0.001 p < 0.001 p < 0.001	0.75
5	Zooplankton	predation probability on copepods (n = 120)	binomial*	logit	intercept experiment 2 copepodites stage	0.50 0.98 –0.63	t = 1.11 F = 5.14 F = 4.38	0.269 0.020 0.040	0.07
6	Phytoplankton	grazing probability on phytoplankton (n = 600)	binomial*	logit	intercept experiment 2 (a) fish length (b) a:b	-2.69 1.60 0.06 0.05	t = -22.25 F = 489.60 F = 173.71 F = 12.73	$\begin{array}{l} p < 0.001 \\ p < 0.001 \\ p < 0.001 \\ p < 0.001 \end{array}$	0.50

adding a fixed 'aquarium-pair' effect in models 1–3 (Table 1) did change the number of degrees of freedom, but did not affect model estimates or p-values in the F-tests.

Although counts were homogeneously split by our method, we found that copepodites and *Daphnia* tended to be slightly but significantly larger in the left branch of the splitter (Supplementary material Appendix 2). Hence, we spread this bias among the fish-present and fish-absent food chains (see below for fish addition) by alternating the position of the fishless aquarium between the left and right branches of the splitter. Therefore this bias could have only added noise to the data without any directional effect.

After 24 h fasting, a single medaka was added in one aquarium of each aquarium pair (n = 30 fish), thus generating a three-level food chain, and the fish was allowed to forage on zooplankton during 24 h. Then, the fish was removed, anaesthetized with tricaine methanesulfonate  $(3 \times 10^{-4} \text{ g l}^{-1})$ , photographed from lateral and dorsal views (for subsequent morphometric measurements), and released. Zooplankton in each aquarium was fixed in ethanol (96%) for subsequent enumeration and size measurement using the ZooScan (Gorsky et al. 2010). This device takes a high-resolution picture of the zooplankton sample, extracts each particle using the Zooprocess V.7.091 software, measures each particle size, and assigns it to a taxonomic category based on a "learning set" provided by the user using the Plankton Identifier V.1.261 software. We further complemented this automatic sorting by a manual check. Zoopankton body length (longest axis) ranged from  $2.0 \times 10^{-2}$  to 2.0 mm in Daphnia (median =  $2.4 \times 10^{-1}$ ), from  $5.7 \times 10^{-2}$  to  $1.7 \times 10^{-1}$  mm in nauplius larvae (median =  $6.8 \times 10^{-2}$ ), and from  $1.1 \times 10^{-1}$  to  $5.9 \times 10^{-1}$  mm in copepodites (median =  $1.2 \times 10^{-1}$ ). In our analyses (below), we assigned *Daphnia* into three size classes based on the log of the scanned body surface area, which provided a more accurate proxy for body size than the longest axis (central values of size classes:  $3.1 \times 10^{-1}$ ,  $4.7 \times 10^{-2}$  and  $7.2 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>). We assigned copepods into two stage classes (nauplius and copepodite stages, respective central values :  $3.0 \times 10^{-3}$  and  $7.2 \times 10^{-3}$  mm<sup>2</sup>).

We measured phytoplankton concentration (in  $\mu$ g l<sup>-1</sup> chlorophyll a) in each aquarium using a spectrofluorimetric probe BBE, which measures the fluorescence emitted by the chlorophyll pigment content in response to excitement by light emitted by diodes. We recorded 10 measurements for each sample.

This whole experiment including behavioural tests, plankton and fish morphometric measurements was repeated twice (hereafter experiment 1 or 2), yielding a total of 120 aquaria and 60 fish.

#### Medaka morphometric measurements

We measured each fish body length (n = 60 SL measurements) to the nearest  $10^{-1}$  mm using ImageJ V.1.49m software (Abràmoff et al. 2004).

In order to quantify medaka body shape (Adams et al. 2004), we placed both landmarks and semi-landmarks on each medaka picture (Mitteroecker and Gunz 2009). Landmarks are defined as fixed homologous points in terms of anatomical structures, and semi-landmarks are sliding points

approximately placed onto medaka contour by the observer and which final position is determined by minimizing the Procrustes distance criterion (Bookstein 1996). We digitized 21 points (8 landmarks and 13 semi-landmarks) onto the dorsal head shape (see photography in Supplementary material Appendix 3 Fig. A2\_A) and 19 points (11 landmarks and 8 semi-landmarks) onto the lateral body shape of medaka (Supplementary material Appendix 3 Fig. A2\_B) using tpsDig2 V.2.16 software (Rohlf 2010). We used the "geomorph" library (Adams et al. 2004) in R V.3.1.0 software (<www.r-project.org>) to perform generalized Procrustes analysis – GPA – (gpagen function of 'geomorph' library) and to remove non-shape variation (the effects of rotation, translation and the isometric effects of size). The GPA superimposes all dot patterns and performs three operations: a centring configuration, a size normalization (scaling), and a rotation calculated in order to minimize the sum of squared deviations between the coordinates of a same point (Rohlf and Slice 1990). The GPA further provides a consensus (the average fish body shape), the centroid size of each individual (the size before scaling), and the Procrustes shape coordinates (containing information on the superposed body shape).

In a pilot methodological experiment, we showed that this method allowed us to accurately discriminate individual medaka according to their shape, and was thus robust to the noise introduced by the digitizing procedure (see analyses in Supplementary material Appendix 4 and scripts in Appendix 9 and 11).

#### Statistical analyses

#### Presence - versus size-dependency of the trophic cascade

We modelled the general effects of fish presence on zooplankton counts and on phytoplankton concentrations in analyses of variance, in which each observations were made at the level of each single aquarium (models 1–3 in Table 1). Model 1 included 360 observations (120 aquaria  $\times$  3 *Daphnia* size classes), model 2 included 240 observations (120 aquaria  $\times$  2 copepod stage classes), and model 3 included 1200 observations (120 aquaria  $\times$  10 repeated measurements).

In contrast, modelling the effect of medaka body size on predation or grazing probability required using binomial GLM regressions (models 5–6 in Table 1) in which an observation was provided by an aquarium pair (n = 60 aquarium pairs), and in which response was defined as:

$$p_{zoo} = \frac{A_z - P_z}{A_z} \text{ or } p_{phyt} = \frac{P_p - A_p}{P_p}$$

Where  $A_z =$  zooplankton count in a given size class (*Daphnia*, 60 aquarium pairs  $\times 3$  sizes classes = 180 observations) or development stage (copepods, 60 aquarium pairs  $\times 2$  stage classes = 120 observations) in the fish-absent aquarium of an aquarium pair,  $A_p$  = phytoplankton concentration in the fish-absent aquarium of an aquarium pairs  $\times 10$  repeated measures = 600 observations),  $P_z$  and  $P_p$  = same variables in the fish-present aquarium of an aquarium pair. Hence,  $p_{zoo}$  = probability for zooplankton to be grazed by zooplankton when the fish is removed (i.e. in the fish-absent aquarium compared to the fish-present aquarium).

In addition to the effects of fish presence or body length on the food chain, we tested in our models for the effects of replicating the experiment (experiment 1 or 2), and of zooplankton size class (real scale, coded as a continuous variable) or development stage (nauplius larvae versus copepodite stage, coded as a categorical variable), alone or in interaction with fish presence or fish body length. Because predictors were different for Daphnia (body size class) and copepods (development stage), we analysed their response to predation in two separate models. In our models, we also tested the effect of fish body mass and found it to be a weaker predictor of medaka predation efficiency on Daphnia (6% less deviance explained) than fish body length. Finally, we also found gape width to be a slightly better predictor of medaka predation efficiency on Daphnia (0.8% more deviance explained) than fish body length. However, we chose to keep body length in our analyses because it is a more universal morphological metric.

In selecting our models, we kept or discarded each effect based on AIC change when the effect was removed from the model. Only changes larger than two points in AIC – or qAIC for overdispersed models (Bolker 2014a), – were considered (Burnham and Anderson 2002). If AIC or qAIC change was not significant, the effect was discarded to keep the most parsimonious model. The selected models are presented in Table 1. We computed goodness of fit of the selected models as the pseudo-R<sup>2</sup> (Table 1), i.e. as the deviance ratio between the selected model and the null model which included an intercept as the only effect. All statistical analyses were performed in R 3.1.0 software (<www.r-project.org>) with the 'nlme' (restricted maximum likelihood; Pinheiro et al. 2012) and 'bbmle' (maximum likelihood; Bolker 2014b) libraries (see scripts in Supplementary material Appendix 5 and 10).

Zooplankton counts were overdispersed (median count = 3, mean count = 23), and we thus explored two different classes of overdispersed count models based on estimating a multiplicative dispersion parameter (quasipoisson in the glm function of R) or on a negative binomial distribution (zero-inflated mixture models had convergence problems with the full set of predictors). We found the model selection procedure to yield similar results with both model classes, and we chose to keep the quasipoisson model for its wide use and its standard implementation in the glm function of R.

#### Computation of effect sizes

We compared the relative contributions of medaka presence *vs.* body length to the strength of the trophic cascade using effects sizes on zoo- and phytoplankton predation probability, computed from overdispersed binomial GLMs similar to models 4–6 (Table 1, see also script in Supplementary material Appendix 6).

We computed the effect size of fish presence as  $\mu = \text{mean}$  probability for prey to be eaten, as predicted from an intercept-only GLM fitted to the data using maximum likelihood. This was technically equivalent to comparing the effect of a 0.0 mm fish (i.e. medaka absence) with the effect of a medium-sized (SL = 23.8 mm) fish, and could be written as  $\mu = \overline{P_{23.8}} - \overline{P_0}$ , where  $\overline{P_{23.8}} = \text{mean}$  probability for prey to be eaten when the fish was present, and  $\overline{P_g} = \text{mean}$  probability for prey to be eaten when no fish was present.

Chapitre 3 : Cascade trophique | 96

We computed the effect size of fish body length as  $s = \overline{P_{36,3}} - \overline{P_{11,5}}$ , where  $\overline{P_{36,3}} =$  mean probability for prey to be eaten when the largest fish in the population (SL = 36.3 mm) was present, and  $\overline{P_{11,5}} =$  mean probability for prey to be eaten when the smallest fish in the population (SL = 11.5 mm) was present. Both  $\overline{P_{36,3}}$  and  $\overline{P_{11,5}}$  were predicted from an overdispersed GLM fitted to the data by maximum likelihood, and which included an intercept plus fish body length as predictors. Thus, dividing  $\mu$  by 23.8 and *s* by 36.3–11.5 = 24.8 would yield the slopes of the linear relationships between predation probability on plankton and medaka body length. We estimated mean and standard deviation for both  $\mu$  and *s* in a bootstrap procedure in which we randomly sampled half of the observations (with replacement), fitted the models and recorded parameters, repeated 1000 times.

Additionally, we complemented this bootstrap procedure by a Markov chain Monte Carlo (MCMC) approach in JAGS ver. 3.4 (Plummer 2003). Specifically, we fitted an overdispersed binomial model to each full count dataset (*Daphnia*, copepods and algae). Following Bayesian standards, we modelled overdispersion as an individualobservation random effect (Kéry 2010). The models included an intercept  $\mu$  and a slope for the effect of medaka body length (standardized to 0 mean and unity standard deviation), from which we computed *s* as defined above. Additionally, we computed the  $\mu/s$  ratio as part of the MCMC chains.

We ran three independent chains of 50 000 iterations each with a burn-in period of 40 000 iterations. We thinned the three chains every 5th iteration, yielding a posterior of 6000 samples for each parameter. Uninformative priors for regression parameters were defined as normal distributions with zero mean and 100 standard deviation, and for variance parameters as a uniform distribution between 0 and 10. Convergence was assessed using the Gelman-Rubin statistic (Gelman and Rubin 1992). The MCMC p-value for the  $\mu$ /s ratio was defined as twice the proportion of the posterior which was larger than one when the posterior mode was less than one, or as twice the proportion of the posterior which was less than one when the posterior mode was larger than one. This test was equivalent to a bilateral t-test in which  $H_0$  was  $\mu = s$  and  $H_1$  was  $\mu \neq s$ . See script in Supplement tary material Appendix 7 for more details about our MCMC approach.

## Links between medaka body shape and predatory performance

We explored how medaka body shape, allometry-free shape (i.e. size-independent body shape), and allometric shape (i.e. size-dependent body shape) influenced predatory performance using partial least square regressions (two blocks partial least squares - 2B-PLS - Rohlf and Corti 2000). 2B-PLS (two.b.pls function of 'geomorph' library) diagonalizes one of the two matrices of covariance between the two data blocks and produces pairs of PLS orthogonal axes (PLS axes) that maximize the covariation between the two data blocks. The result of a 2B-PLS is thus similar to the output of a principal component analysis (redefinition of orthogonal axes in the multivariate morphological space), except that the PLS define morphological axes that are the most correlated to predation variables. In all three 2B-PLS regressions (Table 2, one 2B-PLS per fish view and one with the combined views), predation variables constituted the multivariate response, i.e. the five probabilities of zooplankton to be consumed by medaka (three Daphnia size classes + two copepod stages).

We extracted allometry-free and allometric shapes from multivariate analysis of variance (MANOVA, (Monteiro 1999); manova function of R) between body shape and logtransformed centroid size (Table 2, one MANOVA per fish view; We previously checked with a MANCOVA that fish body shape did not vary with experiment and/or sex. See script in Supplementary material Appendix 8). Residuals from the MANOVA provided allometry-free residuals that correspond to the size-independent body shape coordinates (i.e. allometry-free shape), while predicted shape values from the MANOVA provided the size-dependent body shape coordinates (i.e. allometric shape). We further computed the proportion of variance in shape explained by allometry as A/B, where A = allometric shape variance, and B = total shape variance, as predicted by the MANOVA.

Morphometric analyses were performed with the 'geomorph' library for R (Adams and Otárola-Castillo 2013), and allometric shape change were depicted using the tpsRegr V1.28 software (Rohlf 2003).

#### **Data deposition**

Data available from the Dryad Digital Repository: <http:// dx.doi.org/10.5061/dryad.6m1m6> (Renneville et al. 2015).

Table 2. Summary of morphometric analyses. Correlations in 2B-PLS analyses (Cor values) are between the fish shape and predatory behaviour. Allometry-free shape are residuals from the regression of log-transformed centroid size on shape and allometric shape are the predicted values (see Methods for more details).

			Fish view							
Analysis type	Response	Predictors	Lateral view		Dorsal view		Lateral + dorsal views			
MANOVA	body shape	log-transformed centroid size	Pillai = 0.95	p<0.001	Pillai = 0.89	p<0.001				
2B-PLS shape	zooplankton proportions	body shape	Cor = 0.60	p<0.001	Cor = 0.69	p<0.001	Cor = 0.72	p<0.001		
2B-PLS allometry free shape	zooplankton proportions	allometry free shape	Cor = 0.30	p=0.894	Cor = 0.45	p = 0.297	Cor = 0.48	p=0.498		
2B-PLS allometric shape	zooplankton proportions	allometric shape	Cor = 0.77	p<0.001	Cor = 0.80	p<0.001	Cor = 0.80	p<0.001		

#### Results

## Presence – versus size-dependency of the trophic cascade

#### Presence-dependent effects

Presence of an average fish significantly decreased zooplankton abundance (Table 1, model 1 and 2) and significantly increased phytoplankton concentration (Table 1, model 3), indicating that medaka induced a trophic cascade in our aquaria.

Small-sized *Daphnia* were significantly more numerous than large-sized *Daphnia* (Table 1, model 1), while there was no abundance difference between the two copepod development stages (Table 1, 'copepod stage' discarded from model 2). There was no significant interaction between medaka presence and *Daphnia* size class or copepod development stage (discarded from model 1 and 2), indicating that an average medaka had no significant foraging preference among zooplankton sizes or stages (but see size-dependent effects below).

The significant effect of experiment on zooplankton count and phytoplankton concentration (Table 1, model 1-3) shows that zooplankton was more abundant and phytoplankton less concentrated during the second experiment. Finally, we found a significant interaction between fish presence and experiment on phytoplankton concentration (Table 1, model 3), indicating that fish presence increased less sharply phytoplankton concentration during the second experiment.

#### Size-dependent effects

The probability for *Daphnia* to be eaten by medaka significantly increased with medaka body length (Table 1, model 4; Fig. 1) and, in turn, the probability for phytoplankton to

be grazed by *Daphnia* significantly increased when a larger fish was removed (Table 1, model 6; Fig. 2). Therefore, medaka body length significantly influenced the strength of the trophic cascade induced by medaka. In contrast, medaka body length did not influence the probability for copepods (either copepodite or nauplius stage) to be eaten by medaka ('fish length' discarded from model 5 in Table 1), showing that the size-dependent trophic cascade was mediated by *Daphnia* only.

Small-sized *Daphnia* were significantly more consumed than large-sized *Daphnia* (Table 1, model 4), and the largest *Daphnia* were predated only by large medaka (Fig. 1). However, we did not find any significant interaction between *Daphnia* size and medaka length (discarded from model 4 in Table1; Fig. 1), indicating that small and large medaka had the same preferences in terms of prey size.

Finally, we found that the probability for phytoplankton to be grazed by zooplankton overall increased during the second experiment, as compared with the first experiment. This effect was due to higher zooplankton numbers during the second experiment.

#### Comparison of effect sizes

The bootstrap suggested that the effect of varying medaka presence on zooplankton was 95% of the effect of varying medaka body length (Fig. 3). Specifically, an average-sized medaka increased predation probability on *Daphnia* by 75% (mean  $\pm$  5.2 10<sup>-2</sup> SD) compared to a fish-absent aquarium, while a large-sized medaka increased this probability by 79% (mean  $\pm$  5.8 10<sup>-2</sup> SD) compared to a small-sized medaka. In line with the bootstrap procedure, the MCMC approach suggested that the effect size of varying medaka presence on *Daphnia* was 98% ( $\pm$  1.4 10<sup>-4</sup> SD) of the effect



Figure 1. Size-dependent predation probability. Probability for *Daphnia* to be eaten by medaka as a function of medaka body length. Dots correspond to the raw data and lines correspond to model predictions with 95% confidence intervals (as predicted from model 4, Table 1).



Figure 2. Size-dependent cascading effect. Probability for phytoplankton to be grazed by zooplankton when medaka is removed from an aquarium (i.e. change from fish presence to fish absence), as a function of medaka body length (see Methods for more details). Dots represent the raw data, and lines represent predictions with 95% confidence intervals (as predicted from model 6, Table 1).



Figure 3. Density probability of effect sizes as estimated by bootstrap. The effect size of fish presence (presence-dependent effects  $\mu$ , black line) indicates the mean change in probability for being eaten or grazed when an average medaka was added in a fishless aquarium (*Daphnia* and copepods) or when the average medaka was removed and aquarium returned to a fishless state (phytoplankton). The effect size of fish body length (size-dependent effects *s*, grey line) indicates the mean change in probability for being eaten or grazed when medaka body length was changed from minimum to maximum (*Daphnia* and copepods) or from maximum to minimum (phytoplankton). Predation probabilities were estimated 1000 times in a bootstrap sampling procedure (see text for more details). Densities were estimated using a Gaussian smoothing kernel with a standard deviation of 0.01.

of varying medaka body length. The MCMC p-value was 0.01, indicating that this difference was significant.

In contrast, the effect of medaka on copepods was almost only presence-dependent (Fig. 3). Specifically, an averagesized medaka increased predation probability on copepods (of either stage) by 73% (mean  $\pm 4.1 \ 10^{-2}$  SD) compared to a fish-absent aquarium, while a large-sized medaka had almost no further effect (mean = 0.04 %  $\pm 1.2 \ 10^{-1}$  SD) compared to a small-sized medaka. The MCMC approach confirmed that the effect of medaka body length on copepod counts was not significantly different from 0.

The effect of varying medaka presence on phytoplankton in the bootstrap was 77% of the effect of varying medaka body length (Fig. 3). Specifically, removal of an average-sized medaka increased grazing probability by 27% (mean  $\pm 1.0 \times 10^{-2}$  SD) compared to a fish-absent aquarium, while removal of a large-sized medaka increased this probability by 35% (mean  $\pm 2.8 \times 10^{-2}$  SD) compared to removal of a small-sized medaka. The MCMC approach suggested that the effect size of varying medaka presence was 38% ( $\pm 2.7 \times 10^{-2}$  SD, MCMC p-value < 0.001) of the effect of varying medaka body length, i.e. suggested a stronger effect of sizedependency than the bootstrap procedure.

## Links between medaka body shape and predatory performance

We found that the allometry explained 11% of variance in dorsal shape and 20% of variance in lateral shape. Allometric component visualization showed that large-sized medaka had a proportionally larger and more anterior mouth, a shorter skull and a stockier body than small-sized medaka (Fig. 4).

2B-PLS regressions showed a high correlation between body shape and fish predatory behaviour (Table 2, 2B-PLS shape), thus supporting results from the GLM-based analysis showing a significant effect of body length on medaka predatory performance and on the resultant strength of the trophic cascade (Table 1, model 4 and 6). However, we found no significant correlation between allometry-free shape and fish predatory performance (Table 2, 2B-PLS allometry-free shape), indicating that body shape after accounting for the allometric component did not significantly influence medaka predatory performances in our experiment. Accordingly, we logically found a significant effect of allometric shape on medaka predatory behaviour (Table 2, 2B-PLS allometric shape).

#### Discussion

As expected, we found that medaka presence induced a trophic cascade in which zooplankton was suppressed and unicellular algae were released from grazing by zooplankton. However, in contrast with the dominant focus on presencedependent trophic cascades, we found that the strength of this trophic cascade was more size- than presence-dependent.

In our experiments, the increase in predation probability on Daphnia induced by varying medaka body length from small to large was 105% of the increase induced by varying medaka from absent to present. This effect-size difference parallels body-length difference between medaka being large or small (36.3-11.5 = 24.8 mm) and medaka being present or absent (23.8-0 = 23.8 mm), since  $24.8/23.8 \times 100$  $\approx$  105%. In other words, the slope of the relationship between predation strength and medaka body length was identical when varying independently body length from 0 to 23.8mm or from 11.5 to 36.3 mm. Therefore, medaka predation probability on Daphnia presumably scaled quasilinearly with medaka body length as would be expected from morphology-dependent feeding rates, and not with a power exponent as would be expected from metabolism-dependent feeding rates (Peters 1983, Barneche et al. 2014). This result is in line with the results of Shackell et al. (2010), who found in the northwest Atlantic that fishing-induced body downsizing of predatory fish drove a trophic cascade reflecting a relaxed strength of predation despite that their total number actually increased (see the introduction). Therefore, both experimental and empirical data point to morphological (but not metabolic) constraints on predator-prey interactions as prominent drivers of the strength of trophic cascades.

Linear size scaling of medaka predation strength on *Daphnia* was likely mediated by gape width and resultant diet breadth. Accordingly, diet breadth scales linearly with body size in both terrestrial (Sinclair et al. 2003) and aquatic habitats (Claessen et al. 2002, Woodward et al. 2005).



Figure 4. Medaka allometric shape. Shape variation between small and large medaka. The solid line represents the shape of an average fish. Vectors show the change from the average to the smallest specimen (a and c) and from the average to the largest specimen (c and d), for dorsal view (a and b; mouth down oriented; see also Supplementary material Appendix 3 Fig. A2) and lateral view (c and d; back down oriented; see also Supplementary material Appendix 3 Fig. A2). Differences (arrow length) are tenfold exaggerated to facilitate deformation visualization.

Hence, as medaka diet breadth was expanding in parallel with increasing medaka body length and gape width, a larger proportion of the *Daphnia* population became available for predation and the medaka-*Daphnia* predator–prey link was strengthening. Accordingly, gape width was a slightly better predictor than body length for medaka predation efficiency on large-sized *Daphnia*. In contrast, copepods, due to their small body size, were apparently included into the prey size range of both small and large medaka, such that the strength of the medaka–copepod, predator–prey link was not size-dependent. Therefore, our results, together with the study of Shackell et al. (2010), suggest that size-dependent diet breadth might play a central role in mediating the strength of predator–prey interactions, and from there in driving the strength of trophic cascades.

Importantly, comparison of effect sizes of medaka on zoo- and phytoplankton with both the bootstrap and MCMC approaches reveal that the contribution of sizedependency to the strength of the trophic cascade was magnified as the cascade was moving down along the food chain. This magnification apparently operated because large-sized medaka, in contrast with small and medium-sized medaka, were capable of preving upon large Daphnia (Fig. 1), which in turn have the highest filtering capacities (Burns 1969). This result is in line with theoretical models predicting that the strength of trophic cascades is stronger in presence of a small plant/herbivore body size ratio, such that large-sized herbivores are highly efficient grazers and potent magnifiers of the strength of trophic cascades (Shurin and Seabloom 2005, DeLong et al. 2015). Accordingly, herbivorous Daphnia are one or two orders of magnitude larger than their unicellular algal food and are, as also underscored by our results, potent magnifiers of the strength of trophic cascades (Carpenter and Kitchell 1993). In grasslands, large mammalian herbivores are also orders of magnitude larger than their plant food, and they have indeed been shown to be central for the control of plant biomass (Shurin and Seabloom 2005, Wilmers et al. 2006, Holdo et al. 2009). Hence, we believe that our experimental results are qualitatively valid for a wide range of ecosystems, i.e. that size-dependent trophic cascades and their potential magnification at the herbivore-plant interface should systematically be considered in freshwater, marine or terrestrial biomes.

Beyond body length, we also explored whether medaka body shape influenced predatory performances and drove a shape-mediated trophic cascade. We found that body shape including allometry was significantly linked with medaka predatory performances. However, body shape without its allometric component did not influence medaka predatory performances, highlighting the need to correctly account for the effect of body length on shape before testing for relationships between body shape and behaviour. This negative result in our experiment might be due to 1) an effective absence of any significant covariation between allometryfree shape and predatory behaviour at the within-population level, and/or 2) to the fact that we used only pelagic prey (plankton), while specialization in fish is often associated with the contrasted consumption of pelagic versus benthic prey (Robinson and Wilson 1994).

In human-perturbed ecosystems, the strength of ATCs is likely to be modulated by the amplitude of body downsizing experienced by top predators. The amplitude tested in our experiment (from 36.3 to 11.5 mm) is modest compared to anthropogenic changes observed in the wild. For instance, in the western Scotian Shelf ecosystem (northwest Atlantic) where fishing induced an ATC, planktivorous fish shrank from ca 35 to 30 cm, and benthivorous fish from ca 58 to 42 cm between 1970 and 2008 (Shackell et al. 2010). Often, however, body downsizing is more severe. In the southern Gulf of St Lawrence cod Gadus morhua mean length at maturity decreased from 65 to 40 cm in females and from 55 to 35 cm in males (Swain 2011). On longer time scales, decrease in mean body length may be even larger. Archaeological records of skeletal parts suggest that mean body length of cod in the Gulf of Maine (USA) has decreased from ca 100 to 30 cm due to overfishing (Jackson et al. 2001). In large part, such fishing-induced body downsizing reflects evolutionary changes (Coltman et al. 2003, Olsen et al. 2004, Edeline et al. 2007), and thus both trait change and resultant ATCs might be slow to reverse (Law 2000).

The size-dependency and potential poor reversibility of ATCs calls for a reassessment of conservation measures for biodiversity. Currently, management plans are focused on preserving minimum population numbers to avoid the negative effects of demographic stochasticity on population persistence, i.e. focus on preserving population presence. This classical conservationist perspective should be coupled with a preservation of population size structure, which would limit the strength of ATCs and maintain ecosystem functioning. Importantly, a functional, size-based management also meets conservationist objectives because large-sized individuals often have an increased fecundity and are thus more likely to contribute to increasing population numbers and to relaxing the effects of demographic stochasticity (Berkeley et al. 2004). Additionally, through their elevated egg production, large-sized females are also key to maintaining strong density-dependent regulation and dampen the effects of environmental stochasticity on population dynamics (Hidalgo et al. 2011, Botsford et al. 2014). Finally, preserving population size structure may protect from predator-prey reversals, in which anthropogenic body-downsizing results in downgraded trophic rank and increased predation mortality for the impacted population (Fauchald 2010). Taken together, these results suggest that integrating size-structure preservation into management plans would improve our ability to maintain biodiversity and restore ecosystems.

Acknowledgements – We thank Diego R. Barneche for insightful and fruitful comments on an earlier version of this manuscript. We are indebted to Prof. Kiyoshi Naruse (NIBB, Okazaki, Japan) for his support in capturing and transporting wild medaka from Japan to France, and for his advices for maintaining medaka at the CEREEP Ecotron Île-de-France. We are grateful to Gérard Lacroix for his many advices and for providing the zooplankton splitter, and also to Elisa Thébault for her suggestions. This work received financial support from Région Ile-De-France (R2DS PhD fellowship for CR) and the French National Research Agency (project ANR-10-CEPL-0010 PULSE) and from IDEX SUPER (project Convergences J14U257 MADREPOP). We declare that we have no competing interests.

#### References

- Abràmoff, M. D. et al. 2004. Image processing with Image J. – Biophotonics Int. 11: 36–42.
- Adams, D. C. and Otárola-Castillo, E. 2013. geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. – Meth. Ecol. Evol. 4: 393–399.
- Adams, D. C. et al. 2004. Geometric morphometrics: ten years of progress following the "revolution." – Ital. J. Zool. 71: 5–16.
- Barneche, D. R. et al. 2014. Scaling metabolism from individuals to reef-fish communities at broad spatial scales. – Ecol. Lett. 17: 1067–1076.
- Baum, J. K. and Worm, B. 2009. Cascading top–down effects of changing oceanic predator abundances. – J. Anim. Ecol. 78: 699–714.
- Berkeley, S. A. et al. 2004. Fisheries sustainability via protection of age structure and spatial distribution of fish populations. – Fisheries 29: 23–32.
- Bolker, B. 2014a. Dealing with quasi-models in R. In: R documentation, vignette for 'bbmle'package. <ftp://mirrors.xmu.edu.cn/CRAN/web/packages/bbmle/vignettes/quasi.pdf>.
- Bolker, B. 2014b. R development core team. Maximum likelihood estimation and analysis with the bbmle package. – <http:// CRAN.R-project.org/package=bbmle>.
- Bolker, B. et al. 2003. Connecting theoretical and empirical studies of trait-mediated interactions. – Ecology 84: 1101–1114.
- Bookstein, F. L. 1996. Landmark methods for forms without landmarks: morphometrics of group differences in outline shape. – Med. Image Anal. 1.
- Botsford, L. W. et al. 2014. Cohort resonance: a significant component of fluctuations in recruitment, egg production, and catch of fished populations. – ICES J. Mar. Sci. 71: 2158–2170.
- Burnham, K. P. and Anderson, D. R. 2002. Model selection and multimodel inference: a practical information-theoretic approach. – Springer.
- Burns, C. W. 1969. Relation between filtering rate, temperature, and body size in four species of *Daphnia*. – Limnol. Oceanogr. 14: 693–700.
- Carpenter, S. R. and Kitchell, J. F. 1993. The trophic cascade in lakes. Cambridge Univ. Press.
- Claessen, D. et al. 2002. The impact of size-dependent predation on population dynamics and individual life history. – Ecology 83: 1660–1675.
- Coltman, D. W. et al. 2003. Undesirable evolutionary consequences of trophy hunting. Nature 426: 655–658.
- Darimont, C. T. et al. 2009. Human predators outpace other agents of trait change in the wild. – Proc. Natl Acad. Sci. 106: 952–954.
- Daskalov, G. M. et al. 2007. Trophic cascades triggered by overfishing reveal possible mechanisms of ecosystem regime shifts. – Proc. Natl Acad. Sci. USA 104: 10518–10523.

Chapitre 3 : Cascade trophique | 101 EV-9

- DeLong, J. P. et al. 2015. The body size dependence of trophic cascades. Am. Nat. 185: 354-366.
- Duffy, J. E. 2003. Biodiversity loss, trophic skew and ecosystem functioning. Ecol. Lett. 6: 680–687.
- Edeline, E. et al. 2007. Trait changes in a harvested population are driven by a dynamic tug-of-war between natural and harvest selection. – Proc. Natl Acad. Sci. USA 104: 15799–15804.
- Estes, J. A. et al. 2011. Trophic downgrading of planet earth. - Science 333: 301-306.
- Fauchald, P. 2010. Predator–prey reversal: a possible mechanism for ecosystem hysteresis in the North Sea? Ecology 91: 2191–2197.
- Franssen, N. R. 2011. Anthropogenic habitat alteration induces rapid morphological divergence in a native stream fish. – Evol. Appl. 4: 791–804.
- Gelman, A. and Rubin, D. B. 1992. Inference from iterative simulation using multiple sequences. – Stat. Sci. 7: 457–472.
- Gorsky, G. et al. 2010. Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system. – J. Plankton Res. 32: 285–303.
- Gould, S. J. 1966. Allometry and size in ontogeny and phylogeny. – Biol. Rev. 41: 587–638.
- Haas, T. C. et al. 2010. Morphological responses of a stream fish to water impoundment. Biol. Lett. 6: 803–806.
- Hidalgo, M. et al. 2011. Synergistic effects of fishing-induced demographic changes and climate variation on fish population dynamics. – Mar. Ecol. Prog. Ser. 426: 1–12.
- Holdo, R. M. et al. 2009. A disease-mediated trophic cascade in the Serengeti and its implications for ecosystem C. – PLoS Biol 7: e1000210.
- Hulot, F. D. et al. 2014. Differential responses of size-based functional groups to bottom–up and top–down perturbations in pelagic food webs: a meta-analysis. – Oikos 123: 1291–1300.
- Iguchi, K. and Kitano, S. 2008. Local specialists among endangered populations of medaka, *Oryzias latipes*, harboring in fragmented patches. – Environ. Biol. Fishes 81: 267–276.
- Jackson, J. B. et al. 2001. Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. Science 293: 629–637.
- Kéry, M. 2010. Introduction to WinBUGS for ecologists: Bayesian approach to regression, ANOVA, mixed models and related analyses. – Academic Press.
- Kinoshita, M. et al. 2009. Medaka: biology, management and experimental protocols. Wiley–Blackwell.
- Kirchmaier, S. et al. 2015. The genomic and genetic toolbox of the teleost medaka (*Oryzias latipes*). – Genetics 199: 905–918.
- Law, R. 2000. Fishing, selection, and phenotypic evolution. ICES J. Mar. Sci. 57: 659–668.
- Law, W. and Salick, J. 2005. Human-induced dwarfing of Himalayan snow lotus, *Saussurea laniceps* (Asteraceae). – Proc. Natl Acad. Sci. USA 102: 10218–10220.
- Lazzaro, X. et al. 2009. Predator foraging behaviour drives foodweb topological structure. – J. Anim. Ecol. 78: 1307–1317.
- Mano, H. and Tanaka, Y. 2012. Size specificity of predation by Japanese medaka *Oryzias latipes* on *Daphnia pulex.* J. Freshwater Ecol. 27: 309–313.
- Mitteroecker, P. and Gunz, P. 2009. Advances in geometric morphometrics. Evol. Biol. 36: 235–247.
- Monteiro, L. R. 1999. Multivariate regression models and geometric morphometrics: the search for causal factors in the analysis of shape. – Syst. Biol.: 192–199.
- Oksanen, L. et al. 1981. Exploitation ecosystems in gradients of primary productivity. Am. Nat. 118: 240–261.

Supplementary material (available online as Appendix oik-02877 at <www.oikosjournal.org/appendix/oik-02788>). complementary analyses: Appendix 1–4. Scripts: Appendix 5–11.

- Olsen, E. M. et al. 2004. Maturation trends indicative of rapid evolution preceded the collapse of northern cod. – Nature 428: 932–935.
- Palkovacs, E. P. et al. 2011. Eco-evolutionary trophic dynamics: loss of top predators drives trophic evolution and ecology of prey. – PLoS ONE 6: e18879.
- Palkovacs, E. P. et al. 2012. Fates beyond traits: ecological consequences of human-induced trait change. – Evol. Appl. 5: 183–191.
- Persson, L. et al. 2003. Gigantic cannibals driving a whole-lake trophic cascade. – Proc. Natl Acad. Sci. USA 100: 4035–4039.
- Peters, R. H. 1983. The ecological implications of body size. – Cambridge University Press.
- Pinheiro, J. C. and Bates, D. M. 2000. Mixed-effects models in S and S-PLUS. Statistic and computing collection. – Springer Press.
- Pinheiro, J. et al. 2012. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. < http://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
- Plummer, M. 2003. JAGS: program for analysis of Bayesian graphical models using Gibbs sampling. – Proc. 3rd Int. Workshop Distrib. Stat. Comput. 124: 125.
- Renneville, C. et al. 2015. Data from: Morphological drivers of trophic cascades. – Dryad Digital Repository, <http://dx.doi. org/10.5061/dryad.6m1m6>.
- Robinson, B. W. and Wilson, D. S. 1994. Character release and displacement in fishes: a neglected literature. Am. Nat. 144: 596–627.
- Rohlf, F. J. 2003. tpsRegr: multivariate regressions. Dept of Ecology and Evolution. <a href="http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-tps.html">http://life.bio.sunysb.edu/morph/ soft-tps.html</a>>.
- Rohlf, F. J. 2010. tpsDig: digitize landmarks and outline. Dept of Ecology and Evolution. < http://life.bio.sunysb.edu/morph/ soft-tps.html>.
- Rohlf, F. J. and Slice, D. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. – Syst. Biol. 39: 40–59.
- Rohlf, F. J. and Corti, M. 2000. Use of two-block partial least-squares to study covariation in shape. Syst. Biol. 49: 740–753.
- Shackell, N. L. et al. 2010. Decline in top predator body size and changing climate alter trophic structure in an oceanic ecosystem. – Proc. R. Soc. B 277: 1353–1360.
- Shurin, J. B. and Seabloom, E. W. 2005. The strength of trophic cascades across ecosystems: predictions from allometry and energetics. – J. Anim. Ecol. 74: 1029–1038.
- Sinclair, A. R. E. et al. 2003. Patterns of predation in a diverse predator-prey system. Nature 425: 288-290.
- Swain, D. P. 2011. Life-history evolution and elevated natural mortality in a population of Atlantic cod (*Gadus morhua*). – Evol. Appl. 4: 18–29.
- Terao, O. 1985. Contribution to the study of the ecology of the medaka (*Oryzias latipes*), under natural conditions: life span, reproduction, food habits and its seasonal changes. Ms thesis of Tokyo University.
- Werner, E. E. and Peacor, S. D. 2003. A review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. – Ecology 84: 1083–1100.
- Wilmers, C. C. et al. 2006. Predator disease out-break modulates top–down, bottom–up and climatic effects on herbivore population dynamics. – Ecol. Lett. 9: 383–389.
- Woodward, G. et al. 2005. Body size in ecological networks. – Trends Ecol. Evol. 20: 402–409.
- Zandonà, E. et al. 2011. Diet quality and prey selectivity correlate with life histories and predation regime in Trinidadian guppies.
  Funct. Ecol. 25: 964–973.

## Oikos

#### OIK-02877

Renneville, C., Le Rouzic, A., Baylac, M., Millot, A., Loisel, S. and Edeline, E. 2015. Morphological drivers of trophic cascades. - Oikos doi: 10.1111/oik.02877

## Appendix 1

Body downsizing and ATC in the northwest Atlantic

Let us assume that consumption rate M of prey by one predatory fish follows the rules of metabolic theory such that  $M \propto x^b$ , where b is a constant and x is individual fish body mass. Let us now assume that, due to fishing, each predatory fish of body mass x is now replaced by n predatory fish of body mass y (with y < x). For total biomass of predatory fish to remain constant (as in the Northwest Atlantic), we must have n = x/y > 1. Now, for the consumption rate of n individuals of body mass y to be larger than the consumption rate of a single individual of body mass x, we must have:

$$n y^{b} > x^{b}$$
$$n > \left(\frac{x}{y}\right)^{b}$$
$$\frac{x}{y} > \left(\frac{x}{y}\right)^{b}$$

This condition is met if b < 1, which fits with standard metabolic theory in which  $b \approx 3/4$ . Hence, if the size-dependent trophic cascades were mediated by changes fish metabolism (physiology) in the northwest Atlantic, Shackell et al. (2010) would have observed an increased strength of top-down control with increased number of small-sized predatory fish. Instead, they observed a relaxed strength of top-down control, suggesting that the size-dependency of the trophic cascade was not metabolismbut morphology-dependent.

## Appendix 2

## Sample splitter test

The «splitter» is a device (Fig. A1) that generates pairs of mirroring aquaria by separating a sample of live plankton in two half-size samples (For the splitter design see George et al. 1984).



Figure A1. Zooplankton splitter device.

To test the accuracy of the obtained zooplankton and phytoplankton sample separation (and the similarity of the paired aquaria), 9 zooplankton and 10 phytoplankton samples were split and the 18 or the 20 resulting fractions were analysed respectively with the ZooScan or with the bbe fluoroprobe as described in the main text. We tested for an effect of the right versus left branch of the splitter on size, number and size:number interaction in zooplankton and on algal concentration in phytoplankton. We modelled zooplankton size (log-transformed body surface area) and phytoplankton concentration as a function of splitter branch in a linear mixed model with a random split effect (n = 9 splits for zooplankton and 10 splits for phytoplankton). We modelled zooplankton count and size x count interaction in overdispersed Poisson GLMs. Because sample size in GLMs was small, we complemented the student test for the branch effect with a bootstrap test in which we randomly sampled 4 observations, independently in the right and left branches, and recorded the effect size of right *vs.* left branch, repeated 500 times. The bootstrap p-value was twice the proportion of observations in which effect was superior or inferior to 0, divided by the total size of the bootstrap

sample (n = 500). All models and results are presented in Table A1.

The only significant bias was towards smaller sizes of zooplankton (*Daphnia* and copepodites but not nauplii) in the right branch of the splitter (Table A1, model 1 and 2). We randomized this bias by alternating the position of the fishless aquarium between the left and right branches of the splitter. Therefore this bias has only added noise to the data without influence on the direction of the effect of fish.

Table A1. Summary of the statistical models used to test the effects of the right versus left branch of the splitter on zooplankton body size and number and phytoplankton concentration. Coefficient values were estimated against the intercept reference levels that represent zooplankton body size (log scale, model 1 to 3), zooplankton count (log scale, models 4 to 6) or phytoplankton concentration (model 7) in the left branch of the splitter. (\*) indicates overdispersed models. P-values from Poisson GLMs models (model 4-6) were obtained using a bootstrap procedure with 500 iterations (see text for details).

Model	Trophic level	Response	Distribution	Link	Predictor	Random effect	Coefficient value	F value	Num df, Denom df	P-value
1	Zooplankton	Log Daphnia area	Normal	identity	intercept	split pair	10.15			
-		(n=2,013)			splitter right branch		-0.07	7.38	1, 2003	0.01
2	Zooplankton	Log copedodite area	Normal	identity	intercept	split pair	9.09			
		(n=69)			splitter right branch		-0.30	7.20	1, 59	0.01
3	Zooplankton	Log nauplii area	Normal	identity	intercept	split pair	7.95			
		(n=223)			splitter right branch		0.02	1.84	1, 213	0.17
4	Zooplankton	Daphnia count	Poisson*	log	intercept	no	4.70	no	no	
		(n=18)			splitter right branch		0.02			0.85
5	Zooplankton	Copepodite count	Poisson*	log	intercept	no	1.24		no	
		(n=18)			splitter right branch		0.20	110		0.87
6	Zooplankton	Nauplii count (n=18)	Poisson*	log	intercept	no	2.32	no	no	
					splitter right branch		0.35			0.12
7	Phytoplankton	Algal concentration	Normal	identity	intercept	split pair	461.03			
/		(n=178)			splitter right branch		0.19	0.39	1, 167	0.53

## Appendix 3

Landmark positions onto medaka body shape for behavioural experiment



Figure A2. Landmark positions onto dorsal and lateral view for the experiment. Black points are fixed landmarks and white points are sliding landmarks (i.e. position determined by the observer along a curve without anatomical point of reference).

## Appendix 4

## Morphometric tests

## Introduction

The aim here was to check whether our morphometric procedure could successfully capture individual body shape variability. We further explored 1) which components were implicated in fish shape variability, and 2) which view (i.e. dorsal, lateral or combined views) was the most informative regarding individual body shape.

## Material and methods

## Medaka morphometric measurements

We used 11 fish of various sizes sampled from the same population as those used in the behavioural experiment. Using the same protocol as that described in the main text (i.e. the protocol used for behaviourally-tested fish), each fish was photographed from dorsal (Fig. A3\_A) and lateral (right side; Fig. A3\_B) views 10 independent times (each including anaesthesia, weighting, picturing and recovery), yielding 20 pictures per fish (220 in total). We digitized 21 points (8 landmarks and 13 semi-landmarks) onto the dorsal head shape (Fig. A3\_A) and 15 points (8 landmarks and 7 semi-landmarks) onto the lateral body shape of medaka (Fig. A3\_B) using tpsDig2 V.2.16 (Rohlf 2010). The full data set thus corresponded to 7920 landmark coordinates (11 fish  $\times$  10 pictures  $\times$  2 views  $\times$  (21+15) landmarks).

As in the behavioural experiment, a Procrustes analysis was run on the raw landmark positions with the 'geomorph' library (Adams and Otárola-Castillo 2013) in R 3.1.0 software (<www.r-project.org>), independently for each view (gpagen function in geomorph library). Two sets of data were thus available: the estimated landmark positions after translation, rotation, and scaling (i.e. body shape coordinates), and a vector of centroid sizes.


Figure A3. Landmark positions onto dorsal and lateral view for the morphometric tests. Black points are fixed landmarks and white points are sliding landmarks (i.e. position determined by the observer along a curve without anatomical point of reference).

#### Statistical analyses

Test of shape variability and fish discrimination

In order to test whether our morphometric procedure successfully extracts individual medaka body shape despite sampling variability arising from stochasticity in 1) positioning the fish for picturing and 2) manually positioning landmarks, we conducted two multivariate analyses on body shape coordinates. First, we ran a linear discriminant analysis (LDA; lda function in R), using fish individuals as grouping factor, where the combination of landmarks involved in morphological differences among fish was determined. Second, we ran a principal component analysis (PCA; prcomp function in R) where the linear combinations of landmarks that have the highest variance was determined. The LDA was performed to check whether body shape permits separation individuals when biological signal is maximized (because LDA minimizes the within-fish-group variance and maximizes the between-fish-group variance), while the PCA allowed us to check whether individuals segregate according to their body shape in spite of sampling variability. Results were visualized for each view and for the combination of dorsal and lateral views (hereafter, combined view) in Fig. A4.

#### Assignment tests

We compared the power of different predictor variables (i.e. body shape coordinates, shape score on each PCs and LD axes) for identifying individual fish using assignment tests. The reported successful assignment frequency (Fig. A5) corresponds to the frequency at which it was possible to recognize an unknown picture of an individual among the 11 fish (i.e. among 220 pictures). Two versions of the test

were coded: in version 1 (captioned 'Against all' in Fig. A5), the program is given all fish pictures but one, and determines the identity of the last 'mystery' individual by choosing the group with the smallest average Euclidean distance. In version 2 (captioned 'Against one picture' in Fig. A5), the program is given a random picture for each of the 11 fish, and a twelfth 'mystery' picture has to be assigned to one of the first 11 individuals – the one with the smallest distance was picked. Both versions of the test gave very consistent results, version 2 being (expectedly) slightly less powerful. Additionally, we conducted the tests on both fixed and mixed fixed and sliding landmark coordinates, which both returned very similar results.

#### Components of fish shape variability

We quantified the contributions of 1) allometry and allometry-free components (i.e. biological signal), and 2) stochasticity to variance in fish shape in each axis of both PCA and LDA using regressions of log-transformed centroid size and individual identity on each shape score (as computed by projecting individual shape at each repetition on each PC or LD axis). The allometric variance was computed from the sum of squares explained by log-transformed centroid size, the allometry-free shape variance was the sum of squares explained by individual identity, and stochastic variance was computed from the residual sum of squares. Results were visualized for each view and for the combined view in Fig. A6.

### Results

#### Shape variability and individuals separation

As expected, the LDA was more discriminatory than the PCA, and sharply separated clusters corresponding to individual fish in dorsal, lateral, and combined views (Fig. A4 -A1, -B1 and -C1, respectively, as compared with Fig. A4 -A2, -B2, and -C2 for the PCA). Indeed, the corresponding assignment tests showed that around 90%, 90% and 100% of pictures were assigned to the correct fish from the three first LD axes in dorsal, lateral and combined views, respectively (ig. A5 -A1, -B1 and -C1, respectively).

However, the PCA was sufficient to separate clusters for individual fish in both lateral and dorsal views, as well as in combined view (Fig. A4 -A2, -B2 and -C2, respectively). Indeed, the corresponding assignment tests showed that around 70%, 55% and 80% of pictures were assigned to the correct fish from the three first PC axes in dorsal, lateral and combined views, respectively (Fig. A5

-A2, -B2 and -C2, respectively).

These tests thus revealed that the combined view is more informative than the dorsal or lateral views taken separately, but in regard of the number of landmarks used and the correct assignment frequency (which is only slightly increased), the dorsal view is the most parsimonious one (see Fig. A5 -A1, -B1 and -C1). The assignment tests on the body shape coordinates returned similar results (Fig. A5 -A3, -B3 and -C3).



Figure A4. Linear discriminant (left, number 1) and principal component (right, number 2) analyses for dorsal view (A1 and A2), lateral view (B1 and B2) or cumulative views (C1 and C2) with sliding landmarks. Colours and ellipses correspond to the 11 individual fish used in the analysis.

Components of fish shape variability

As expected, the variance for each of the first LD axes was due to fish differences (both allometry and allometry-free components), with a large contribution of allometry, particularly for the dorsal view (Fig. A6 -A1, -B1 and -C1).

In line with results from section 2.3.1. (Fig. A4 and A5 parts -A2, -B2 -C2), regressions showed that the variance captured by the first PC axes was mainly due to individual differences in fish body shape (Fig. A6 -A2, -B2 and -C2).

Contrary to the usual expectation that allometry is entirely captured by the first PC, allometric effects were diffusely caught by the two first PCs (Fig. A6 -A2, -B2 and -C2). The analysis of variance for the lateral view showed that a large part of variance captured by the first PCs axes was due to stochasticity (Fig. A6 -B2), which is consistent with precedent results (Fig. A4 and A5 -B2).



Figure A5. Average assignment scores for discriminant components (left, number 1), principal components (middle, number 2), and for all data (right, number 3) with sliding landmarks. Discriminant and principal components are tested with the 'against one picture' method, which is computationally faster. 'Self' represents the assignment power of the component itself, while 'cumulative' stands for the effect of the component considered together with all previous one. Legend symbols in B1, B2 and B3 are common for each column.

A1: Dorsal, LDA Components







#### B1: Lateral, LDA Components



**B2: Lateral, PCA Components** 





C2: D+L, PCA Components



Figure A6. Variance analyses for the first 10 principal components (left) and the first 10 discriminant components (right) for the dorsal view (A1 and A2), the lateral view (B1 and B2) and the combined views (C1 and C2). Legend symbols in B1 and B2 are common for each column.

### Conclusion

Our morphometric procedure successfully extracted individual medaka body shape with or without sampling variability. The LDA clearly featured a satisfactory discrimination power even with a few dimensions, demonstrating that the landmark data contains a substantial amount of biological information about the fish morphology. In spite of a larger overlap, fish morphological differences could also be spotted from the first PCs, suggesting that the maximal variance axes contain a significant amount of biological information about fish shape. The allometric component explained a large part of variability in fish shape, particularly for dorsal shape, which is the most parsimonious one. To increase discrimination power of the lateral view, we added four landmarks onto pictures in the behavioural experiment (Fig. A2 and A3). Even if sliding landmarks did not widely increase discrimination power between individuals and reduced total information captured by coordinates (i.e. semi-landmark variability is concentrated only in one direction), we used them because the information they capture is linked to biological variation in shape.

# Supplementary references

- Adams, D. C. and Otárola-Castillo, E. 2013. geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. Meth. Ecol. Evol. 4: 393–399.
- George, D. G. et al. 1984. A simple plankton splitter with i note on its reduced subsampling variance. -Limnol. Oceanogr. 29: 429–433.
- Rohlf, F. J. 2010. tpsDig: Digitize landmarks and outline. Dept of Ecology and Evolution. <a href="http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-tps.html">http://life.bio.sunysb.edu/morph/soft-tps.html</a>.
- Shackell, N. L. et al. 2010. Decline in top predator body size and changing climate alter trophic structure in an oceanic ecosystem. Proc. R. Soc. B 277: 1353–1360.

<u>Warning</u>: Please load libraries (in R), data (in DataDRYAD) and specific functions (provided here in appendix 10 and 11) used in each script before run it. Change also the path files.

# Appendix 5

### Script 1, Oikos02877\_Presence\_vs\_Size\_analyses.R

##### Statistical analyses for oikos article: Part I on presence vs size dependency of the trophic cascade ####
setwd("C:/Users/clementine/Dropbox/These/Articles\_prep/Article\_M2/Data\_and\_Scripts")
source("Functions/Oikos02877\_Quasiglm.R") # Some functions in order to compare "quasi" glm models see appendix 6
# from Bolker 2014 "Dealing with quasi-models in R" R documentation, vignette for "bblme" package

##### DENSITY FISH EFFECT ####
data<-read.table(file="Data/Oikos\_Data/Oikos\_DensityEffect.txt", header=T, sep="\t", dec=".", na.strings="NA")
summary(data)
data\$Exp<-as.factor(as.character(data\$Exp)) #Experiment is a factor
data\$Treat<-relevel(data\$Treat, ref="T")
#Control treatment T is the reference, #T= fish absent treatment, C = fish present treatment</pre>

#### On Daphnia ####
dat<-data[data\$Zoo=="Daph",] #selection of only Daphnia counts
dat\$Category<-as.numeric(as.character(dat\$Category)) #Daphnia size class is convert in continuous variable</pre>

#Dapnhia counts as a function of absence vs. presence of medaka m1<-glm(Nb~Exp+Treat+Category, data=dat, family="quasipoisson") #quasipoisson glm because ddl<<residual deviance, dispersion parameter as to be > 1 library("MASS") m1b<-glm.nb(Nb~Exp+Treat+Category, data=dat) #With negative binomial error library("pscl") m1c<-zeroinfl(Nb~Exp+Treat+Category | Treat+Category, dist="negbin", data=dat) #zeo-inflated model summary(m1) # coefficients estimation summary(m1b) summary(m1c) anova(m1, test="F") #F-value and p-value for each effect in model 1 library("car") Anova(m1, type="II", test="F") #other way if each tested effect are not well ordering in the model (m1\$null.deviance-m1\$deviance)/m1\$null.deviance # #pseudo-R<sup>2</sup> calculation, R<sup>2</sup>=0.4419983

#Example of selection model procedure based on dqAIC criteria (delta quasi-AIC criteria see Bolker 2014, Dealing with quasi-models in R")

#Production of several models m1a=glm(Nb~Exp+Treat\*Category, data=dat, family="quasipoisson") m2=glm(Nb~Exp+Treat, data=dat, family="quasipoisson") m3=glm(Nb~Exp+Category, data=dat, family="quasipoisson") m4=glm(Nb~Treat\*Category, data=dat, family="quasipoisson") m5=glm(Nb~Treat+Category, data=dat, family="quasipoisson") m6=glm(Nb~Exp+Category, data=dat, family="quasipoisson") m7=glm(Nb~Treat, data=dat, family="quasipoisson")

#update to compute quasi-AIC
glmQ1=update(m1, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail)
glmQ1a=update(m1a, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail)
glmQ2=update(m2, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail)

glmQ3=update(m3, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ4=update(m4, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ5=update(m5, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ6=update(m6, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ7=update(m7, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) library(bbmle) ICtab(glmQ7, glmQ6, glmQ5, glmQ4, glmQ3, glmQ2, glmQ1a, glmQ1, dispersion=dfun(m1), type="qAIC") #compute dqAIC # Choose the best model with the smallest dqAIC (at least 2 points if not choose the most parcimonious model) # Here we keep m1 #### On Copepods #### dat<-data[data\$Zoo=="Cop",] #selection of only copepod counts dat\$Category<-relevel(dat\$Category, ref="Naup") #young nauplii stage of copepod as the reference #Copepod counts as a function of absence vs. presence of medaka m2<-glm(Nb~Exp+Treat, data=dat, family="quasipoisson") library("MASS") m2b<-glm.nb(Nb~Exp+Treat+Category, data=dat) #With negative binomial error library("pscl") m2c<-zeroinfl(Nb~Exp+Treat+Category | Treat+Category, dist="negbin", data=dat) #zeo-inflated model summary(m2) # coefficients estimation summary(m2b) summary(m2c) anova(m2, test="F") #F-value and p-value for each effect in model 2 (m2\$null.deviance-m2\$deviance)/m2\$null.deviance # #pseudo-R<sup>2</sup> calculation, R<sup>2</sup>=0.676002 ##### SIZE FISH EFFECT #### data<-read.table(file="Data/OikosData/Oikos SizeEffect.txt", header=T, sep="\t", dec=".", na.strings="NA") summary(data) data\$Exp<-as.factor(as.character(data\$Exp)) #### On Daphnia #### dat<-data[data\$Zoo=="Daph",] #selection of only Daphnia counts dat\$Category<-as.numeric(as.character(dat\$Category)) #Experiment is a factor #Total zooplankton concentration as a function of presence vs. absence of medaka conso<-pmax(dat\$NbT-dat\$NbC, 0) # number of daphnia consumed by fish non conso<-dat\$NbC # number of daphnia non consumed by fish resp<-cbind(conso, non conso) #response vector for binomal modelisation = consumed, total-consumed m4=glm(resp~Body length+Category, data=dat, family="quasibinomial") m4b=glm(resp~Mass+Category, data=dat, family="quasibinomial") m4c=glm(resp~Mouth length+Category, data=dat, family="quasibinomial") m4d=glm(resp~Eye diam+Category, data=dat, family="quasibinomial") summary(m4) glmQ4=update(m4, family="x.quasibino", na.action=na.fail) glmQ4b=update(m4b, family="x.quasibino", na.action=na.fail) glmQ4c=update(m4c, family="x.quasibino", na.action=na.fail) glmQ4d=update(m4d, family="x.quasibino", na.action=na.fail) library(bbmle) ICtab(glmQ4, glmQ4b, glmQ4c, glmQ4d, dispersion=dfun(m4), type="qAIC") #compute dqAIC #Best model with mouth as predictor, after is body length and in the last is the body mass anova(m4, test="F") #F-value and p-value for each effect in model 4 (m4\$null.deviance-m4\$deviance)/m4\$null.deviance # #pseudo-R<sup>2</sup> calculation, R<sup>2</sup>=0.7533859 #### Figure 1 #### dat\$Category<-as.factor(as.character(dat\$Category)) #As categorical variable to draw the figure

16/41

m4=glm(resp~Body length+Category, data=dat, family="quasibinomial") #Compute the model to calculate fitted values newdat<-expand.grid(Body length=seq(min(dat\$Body length),max(dat\$Body length),length.out=100000), Category=levels(dat\$Category)) #create data frame with # the range of predicted variables wanted to put fitted values pred<-data.frame(predict(m4, newdata=newdat, type="response", se.fit=T)) #fitted values calculation on the scale response with standard errors newdat=cbind(newdat,pred) newdat\$lci<-newdat\$fit-1.96\*newdat\$se.fit #low confidence intervals for predicted values newdat\$hci<-newdat\$fit+1.96\*newdat\$se.fit # high confidence intervals for predicted values x11() #open new window par(mai=c(0,0,0,0), omi=c(.9,.9,.1,.1), cex=1) #new marge parameters plot(dat\$Prop[dat\$Category=="7200.94505638975"]~dat\$Body\_length[dat\$Category=="7200.94505638975"], ann=F, axes=F, pch=16, col="snow3", cex=1.2) #small Daphnia points(dat\$Prop[dat\$Category=="47423.4514349177"]~dat\$Body length[dat\$Category=="47423.4514349177"], ann=F, pch=16, col="grav48", cex=1.2) #average Daphnia points(dat\$Prop[dat\$Category="312317.859446013"]~dat\$Body length[dat\$Category=="312317.859446013"], ann=F, pch=16, col="black", cex=1.2) #large Daphnia axis(2) #y-axis axis(1, xaxp=c(11, 37,13)) #x-axis mtext(side=1, line=2.5, "Medaka body length (mm)", cex=1.6, font=2) mtext(side=2, line=2.5, substitute(paste("Probability of predation on ", italic ('Daphnia pulex'))), cex=1.6, font=2) legend("bottomright", legend=expression(paste("Small-sized ", italic('Daphnia')), paste("Medium-sized ", italic('Daphnia')), paste("Large-sized ", italic('Daphnia'))), pch=c(16,16,16), col=c("snow3", "gray48", "black"), bty="n", inset=c(0,0.2), cex=1.2) lines(newdat\$Body length[newdat\$Category=="7200.94505638975"], newdat\$fit[newdat\$Category=="7200.94505638975"], col="snow3", lwd=3, bty="l") lines(newdat\$Body\_length[newdat\$Category=="7200.94505638975"], newdat\$lci[newdat\$Category=="7200.94505638975"], col="snow3", lty=2, lwd=2) lines(newdat\$Body length[newdat\$Category=="7200.94505638975"], newdat\$hci[newdat\$Category=="7200.94505638975"], col="snow3", lty=2, lwd=2) lines(newdat Body length[newdat Category == "312317.859446013"], newdat fit[newdat fit[newdat fit]newdat fit[newdat fit]newdat fit[newdat fit]newdat fit]newdat fit[newdat fit]newdat fit]newdat fit]newdat fit[newdat fit]newdat fit]newdat fit]newdat fit[newdat fit]newdat fcol="black", lwd=2, bty="l") lines(newdat\$Body length[newdat\$Category=="312317.859446013"], newdat\$lci[newdat\$Category=="312317.859446013"], col="black", lty=2, lwd=2) lines(newdat\$Body length[newdat\$Category=="312317.859446013"], newdat\$hci[newdat\$Category=="312317.859446013"], col="black", lty=2, lwd=2) lines(newdat\$Body length[newdat\$Category=="47423.4514349177"], newdat\$fit[newdat\$Category=="47423.4514349177"], col="gray48", lwd=2, bty="l")  $lines(newdat\Body\ length[newdat\Category=="47423.4514349177"], newdat\category=="47423.4514349177"], newdat\category=="47423.45143491777"], newdat\category=="47423.4514349177"], new$ col="gray48", lty=2, lwd=2)lines(newdat\$Body length[newdat\$Category=="47423.4514349177"], newdat\$hci[newdat\$Category=="47423.4514349177"], col="gray48", lty=2, lwd=2) #### On Copepods #### dat<-data[data\$Zoo=="Cop",] #selection of Copepod counts dat\$Category<-relevel(dat\$Category, ref="Naup") #young nauplii stage of copepod as the reference #Total zooplankton concentration as a function of presence vs. absence of medaka conso<-pmax(dat\$NbT-dat\$NbC, 0) # number of daphnia consumed by fish non conso<-dat\$NbC # number of daphnia non consumed by fish resp<-cbind(conso, non conso) #response vector for binomal modelisation = consumed, total-consumed m5=glm(resp~ Exp+Category, data=dat, family="quasibinomial") #No effect of fish morphology (neither length, mouth nor mass) summary(m5) anova(m5, test="F") #F-value and p-value for each effect in model 4 (m5\$null.deviance-m5\$deviance)/m5\$null.deviance # #pseudo-R<sup>2</sup> calculation, R<sup>2</sup>=0.07131422

\*\*\*\*\*\* ##### DENSITY FISH EFFECT #### data<-read.table(file="Data/OikosData/Oikos DensityEffect Phyto.txt", header=TRUE, sep="\t", dec=".", na.strings="NA") data<-data[!is.na(data\$Total),] data\$Exp<-as.factor(as.character(data\$Exp)) data\$Treat<-relevel(data\$Treat, ref="T") #control treatment as the reference, #T= NO FISH, C = FISH PRESENT summary(data) #Total chlorophyll concentration as a function of presence vs. absence of medaka library(nlme) m3=gls(Total~Exp\*Treat, data=data, weights=varExp(form=~fitted(.)), na.action=na.omit) #heteroskedastic error summary(m3) anova(m3) R2=cor(data\$Total, predict(m3))^2 # firt method, pseudo-R<sup>2</sup>=0.8033639 R2.1=1 - with(data, (sum((Total-predict(m3))^2)/sum((Total-mean(Total))^2))) # second way, pseudo-R<sup>2</sup>=0.8033639 ##### SIZE FISH EFFECT #### data<-read.table(file="Data/OikosData/Oikos SizeEffect Phyto.txt", header=TRUE, sep="\t", dec=".", na.strings="NA") summary(data) data<-data[!is.na(data\$TotalC),] data\$Exp<-as.factor(as.character(data\$Exp)) ##Proportion algae eaten as a function of fish length resp=cbind(data\$TotalC-data\$TotalT, data\$TotalT) #response vector for binomal modelisation = consumed , total-consumed resp=ifelse(resp<0, 0, resp) m6<-glm(resp~Exp\*Body length, data=data, na.action=na.omit, family="quasibinomial") m6b<-glm(resp~Exp\*Mass, data=data, na.action=na.omit, family="quasibinomial") m6c<-glm(resp~Exp\*Mouth length, data=data, na.action=na.omit, family="quasibinomial") m6d<-glm(resp~Exp\*Eye diam, data=data, na.action=na.omit, family="quasibinomial") glmQ6=update(m6, family="x.quasibino", na.action=na.fail) glmQ6b=update(m6b, family="x.quasibino", na.action=na.fail) glmQ6c=update(m6c, family="x.quasibino", na.action=na.fail) glmQ6d=update(m6d, family="x.quasibino", na.action=na.fail) library(bbmle) ICtab(glmQ6, glmQ6b, glmQ6c, glmQ6d, dispersion=dfun(m6), type="qAIC") #compute dqAIC #Best model with body length as predictor, after is mouth, eyes size and then body mass summary(m6) anova(m6, test="F") (m6\$null.deviance-m6\$deviance)/m6\$null.deviance #pseudo-R<sup>2</sup> calculation, R<sup>2</sup>=0.4918605 #### Figure 2 #### newdat <- expand.grid(Body length=seq(min(data\$Body length),max(data\$Body length),length.out=10000), Exp=c("1","2")) pred<-data.frame(predict(m6, newdata=newdat, type="response", se.fit=T)) newdat=cbind(newdat,pred) newdat\$lci<-newdat\$fit-1.96\*newdat\$se.fit newdat\$hci<-newdat\$fit+1.96\*newdat\$se.fit x11() par(mai=c(0,0,0,0), omi=c(.9,.9,.1,.1), cex=1) plot(data\$Prop[data\$Exp=="2"]~data\$Body length[data\$Exp=="2"], ann=F, axes=F, pch=1, cex=1.2, col="grey48", xlim=c(11,37), vlim=c(0,1) #Exp 2 points(data\$Prop[data\$Exp=="1"]~data\$Body length[data\$Exp=="1"], ann=F, pch=1, cex=1.2, col="black") #Exp 1 axis(2) # y axisaxis(1, xaxp=c(11, 37, 13)) # x axismtext(side=1, line=2.5, "Medaka body length (mm)", cex=1.2, font=2) mtext(side=2, line=2.5, "Probability of phytoplankton to be grazed", cex=1.5, font=1)

18/41

legend("topleft", legend=c("Experiment 1", "Experiment 2"), pch=c(1,1), col=c("black", "grey48"), bty="n", inset=c(0.1,0.1), cex=1.2)

lines(newdat\$Body\_length[newdat\$Exp=="1"], newdat\$fit[newdat\$Exp=="1"], col="black", lwd=2) lines(newdat\$Body\_length[newdat\$Exp=="1"], newdat\$lci[newdat\$Exp=="1"], col="black", lty=2, lwd=2) lines(newdat\$Body\_length[newdat\$Exp=="1"], newdat\$hci[newdat\$Exp=="1"], col="black", lty=2, lwd=2) lines(newdat\$Body\_length[newdat\$Exp=="2"], newdat\$fit[newdat\$Exp=="2"], col="grey48", lty=2, lwd=2) lines(newdat\$Body\_length[newdat\$Exp=="2"], newdat\$lci[newdat\$Exp=="2"], col="grey48", lty=2, lwd=2) lines(newdat\$Body\_length[newdat\$Exp=="2"], newdat\$lci[newdat\$Exp=="2"], col="grey48", lty=2, lwd=2) lines(newdat\$Body\_length[newdat\$Exp=="2"], newdat\$lci[newdat\$Exp=="2"], col="grey48", lty=2, lwd=2)

# Appendix 6

### Script 2, Oikos02877\_Effect\_sizes\_analyses.R

#### Statistical analyses for oikos article: Part II on Effect size of presence and length of fish ####

setwd("C:/Users/clementine/Dropbox/These/Articles\_prep/Article\_M2/Data\_and\_Scripts")

```
data<-read.table(file="Data/OikosData/Oikos SizeEffect.txt", header=T, sep="\t", dec=".", na.strings="NA")
summary(data)
#### u and s for DAPHNIA ####
Data<-data[data$Zoo=="Daph",] #selection of Daphnia counts
Data$Category<-as.numeric(as.character(Data$Category))
summary(Data) #mean prop 0.71
newdat=data.frame(Body length=c(min(Data$Body length),max(Data$Body length))) # maximal range for body length
u \leq c \cap
ub \leq c()
s < -c()
sb < -c()
for(j in 1:1000){
 dat <- Data[sample(dim(Data)[1], dim(Data[1])/2),] #random sample of half of the observations
 resp<-cbind(pmax(dat$NbT-dat$NbC, 0), dat$NbC)</pre>
#response vector for binomal modelisation = consumed, total-consumed
 m0=glm(Prop~1, data=dat, family="binomial")
 m0b=glm(resp~1, data=dat, family="quasibinomial")
 u[i]=(1/(1+exp(-m0(coef[1])))) #transformation inverse logit
 ub[j]=(1/(1+exp(-m0b(coef[1])))) #transformation inverse logit
 ms=glm(Prop~Body length, data=dat, family="binomial")
 msb=glm(resp~Body_length, data=dat, family="quasibinomial")
 s[j]=(predict(ms,newdat, type="response")[2]-predict(ms,newdat, type="response")[1]) #prediction on the response scale
 sb[j]=(predict(msb,newdat, type="response")[2]-predict(msb,newdat, type="response")[1])
#prediction on the response scale
}
table Daph<-data.frame(mean prop=c(mean(Data$Prop)),
mean small=c(mean(Data$Prop[Data$Body length==min(Data$Body length)])),
mean large=c(mean(Data$Prop[Data$Body length==max(Data$Body length])), u prop=c(mean(u)), var u=c(var(u)),
u resp=c(mean(ub)), var u=c(var(ub)), s prop=c(mean(s)), var s=c(var(s)), s resp=c(mean(sb)), var s=c(var(sb)))
x11()
par(mfrow=c(3,1))
par(mar=par("mar")+ c(2,3,0,0))
plot(density(u, bw = 0.01), xlim=c(0, 1), ylim=c(0, 30), lwd=2, main=expression(italic("Daphnia")), cex.main=1.5, font=2, font.main=2,
cex.lab=2, cex.axis=2, axes=F, ann=F)
axis(2, cex.axis=2)
axis(1, cex.axis=2)
title(expression(italic("Daphnia")), cex.main=3, font.main=2)
lines(density(s, bw = 0.01), xlim=c(0, 1), ylim=c(0,30), lwd=2, col="gray48")
legend("bottomleft", legend=expression(paste("Presence-dependent effect ", italic('µ')), paste("Size-dependent effect ", italic('s'))),
pch=c(15,15), col=c("black", "gray48"), bty="n", inset=c(0,0.2), cex=1.8)
mean(ub); summary(ub)
mean(sb); summary(sb)
var(ub); var(sb)
```

20/41

#### u and s for COPEPODS #### Data<-data[data\$Zoo=="Cop",] #selection of Copepod counts Data\$Category<-relevel(Data\$Category, ref="Naup") #young nauplii stage of copepod as the reference summary(Data) #mean prop 0.60 newdat=data.frame(Body length=c(min(Data\$Body length),max(Data\$Body length))) # maximal range for body length  $u \leq c()$  $ub \leq c()$ s<- c() sb < -c()for(j in 1:1000){ dat <- Data[sample(dim(Data)[1], dim(Data[1])/2),] #random sample of half of the observations resp<-cbind(pmax(dat\$NbT-dat\$NbC, 0), dat\$NbC)</pre> #response vector for binomal modelisation = consumed, total-consumed m0=glm(Prop~1, data=dat, family="binomial") m0b=glm(resp~1, data=dat, family="quasibinomial") u[j]=(1/(1+exp(-m0\$coef[1]))) #transformation inverse logit ub[j]=(1/(1+exp(-m0b\$coef[1]))) #transformation inverse logit ms=glm(Prop~Body length, data=dat, family="binomial") msb=glm(resp~Body length, data=dat, family="quasibinomial") s[j]=(predict(ms,newdat, type="response")[2]-predict(ms,newdat, type="response")[1]) #prediction on the response scale sb[j]=(predict(msb,newdat, type="response")[2]-predict(msb,newdat, type="response")[1]) #prediction on the response scale } table Cop<-data.frame(mean prop=c(mean(Data\$Prop)), mean\_small=c(mean(Data\$Prop[Data\$Body\_length==min(Data\$Body\_length)])), mean\_large=c(mean(Data\$Prop[Data\$Body\_length==max(Data\$Body\_length])), u\_prop=c(mean(u)), var\_u=c(var(u)), u\_resp=c(mean(ub)), var\_u=c(var(ub)), s\_prop=c(mean(s)), var\_s=c(var(s)), s\_resp=c(mean(sb)), var\_s=c(var(sb))) plot(density(u, bw = 0.01), xlim=c(0, 1), ylim=c(0,30), lwd=2, main="Copepods", cex.main=1.5, font=2, font.main=2, cex.lab=2, cex.axis=2, axes=F, ann=F) axis(2, cex.axis=2) axis(1, cex.axis=2) title("Copepods", cex.main=3, font.main=2) mtext(side=2, line=3.5, "Density", cex=1.4, font=1) lines(density(s, bw = 0.01), xlim=c(0, 1), ylim=c(0,30), lwd=2, col="gray48") # legend("topleft", legend=expression(paste("Presence-dependent effect ", italic('µ')), # paste("Size-dependent effect ", italic('s'))), # pch=c(15,15), col=c("black", "gray48"), bty="n", inset=c(0,0.2), cex=1.2) mean(ub); summary(ub) mean(sb); summary(sb) var(ub); var(sb) \*\*\*\* Data<-read.table(file="Data/OikosData/Oikos SizeEffect Phyto.txt", header=TRUE, sep="\t", dec=".", na.strings="NA") summary(Data) Data<-Data[!is.na(Data\$TotalC),] ##### u and s for DAPHNIA ##### newdat=data.frame(Body length=c(min(Data\$Body length),max(Data\$Body length)))  $u \leq c()$  $ub \leq c()$ s < -c()sb < -c()for(j in 1:1000){

 $dat \leq Data[sample(dim(Data)[1], dim(Data[1])/2),]$ resp=cbind(dat\$TotalC-dat\$TotalT, dat\$TotalT) resp=ifelse(resp<0, 0, resp) m0=glm(Prop~1, data=dat, family="binomial") m0b<-glm(resp~1, data=dat, family="quasibinomial") u[j]=(1/(1+exp(-m0\$coef[1]))); #0.3268259 ub[j]=(1/(1+exp(-m0b(coef[1]))); #0.2689232ms=glm(Prop~Body length, data=dat, family="binomial") msb=glm(resp~Body length, data=dat, family="quasibinomial") s[j]=(predict(ms,newdat, type="response")[2]-predict(ms,newdat, type="response")[1]) sb[j]=(predict(msb,newdat, type="response")[2]-predict(msb,newdat, type="response")[1]) } table Phyt<-data.frame(mean prop=c(summary(Data\$Prop)[[4]]), mean small=c(mean(Data\$Prop[Data\$Body length==min(Data\$Body length)])), mean large=c(mean(Data\$Prop[Data\$Body length==max(Data\$Body length])), u prop=c(mean(u)), var u=c(var(u)), u\_resp=c(mean(ub)), var\_u=c(var(ub)), s\_prop=c(mean(s)), var\_s=c(var(s)), s\_resp=c(mean(sb)), var\_s=c(var(sb))) plot(density(u, bw = 0.01), xlim=c(0, 1), ylim=c(0,30), lwd=2, main="Phytoplankton", cex.main=1.5, font=2, font.main=2, cex.lab=2, cex.axis=2, axes=F, ann=F) title("Phytoplankton", cex.main=3, font.main=2) axis(2, cex.axis=2) axis(1, cex.axis=2) mtext(side=1, line=3.5, "Predation probability", cex=1.4, font=1) lines(density(s, bw = 0.01), xlim=c(0, 1), ylim=c(0,30), lwd=2, col="gray48") # legend("topleft", legend=expression(paste("Presence-dependent effect ", italic('µ')), # paste("Size-dependent effect ", italic('s'))), # pch=c(15,15), col=c("black", "gray48"), bty="n", inset=c(0,0.2), cex=1.2) mean(ub); summary(ub) mean(sb); summary(sb) var(ub); var(sb)

table\_Cop=cbind(Level=c(rep("Copepoda",dim(table\_Cop)[1])), table\_Cop) table\_Daph=cbind(Level=c(rep("Daphnia", dim(table\_Daph)[1])), table\_Daph) table\_Phyt=cbind(Level=c(rep("Phytoplankton", dim(table\_Phyt)[1])), table\_Phyt) Tot<-rbind(table\_Daph, table\_Cop, table\_Phyt)

### Appendix 7

### Script 3, Oikos02877\_Effect\_sizes\_JAGS.R

# DAPHNIA DATA

Data<read.table(file="/home/edeline/Documents/Stages\_theses/These\_Clementine/Article\_master/Oikos/Data\_and\_Scripts/Data/OikosData/Oi kos\_SizeEffect.txt", header=T, sep="\t", dec=".", na.strings="NA") Data<-Data[Data\$Zoo=="Daph",] #selection of Copepod counts dead <- pmax(Data\$NbtotT-Data\$NbtotC, 0);#RESET TO 0 IN CASE OF NEGATIVE DIFFERENCE all <- Data\$NbtotT # COPEPOD DATA Data<read.table(file="/home/edeline/Documents/Stages theses/These Clementine/Article master/Oikos/Data and Scripts/Data/OikosData/Oi kos\_SizeEffect.txt", header=T, sep="\t", dec=".", na.strings="NA") Data<-Data[Data\$Zoo=="Cop",] #selection of Copepod counts dead <- pmax(Data\$NbtotT-Data\$NbtotC, 0);#RESET TO 0 IN CASE OF NEGATIVE DIFFERENCE all <- Data\$NbtotT #== # ALGAE DATA #: Data<read.table(file="/home/edeline/Documents/Stages\_theses/These\_Clementine/Article\_master/Oikos/Data\_and\_Scripts/Data/OikosData/Oi kos SizeEffect Phyto.txt", header=T, sep="\t", dec=".", na.strings="NA") Data<-Data[!is.na(Data\$TotalC),] dead <- round(pmax(Data\$TotalC-Data\$TotalT, 0));</pre> #RESET TO 0 IN CASE OF NEGATIVE DIFFERENCE and round to closest integer value all <- round(Data\$TotalC) #-----# ANALYSES IN JAGS #== ##1) the model modelstring = " model{ ## priors (all flat) alpha ~ dnorm(0, 0.01)beta ~ dnorm(0, 0.01)sigma ~ dunif(0,10)tau <- pow(sigma, -2) ##likelihood for (i in 1 : n){  $C[i] \sim dbin(p[i], N[i])$ #distribution  $logit(p[i]) \le alpha + beta*x[i] + eps[i]$ #linear predictor  $eps[i] \sim dnorm(0, tau)$ #overdispersion parameter ## Derived quantities #effect size of fish presence, probability scale  $mu \leq ilogit(alpha)$ size <- ilogit(beta\*1.671) - ilogit(-beta\*1.645)</pre> #effect size of varying fish from large to small #effect-size difference (presence relative to length)  $d \leq mu/size$ ##Goodness of fit assessment based on posterior predictive check for (i in 1:n)predicted[i] <- N[i]\*p[i]  $resid[i] \le (C[i]-N[i]*p[i])/sqrt(N[i]*p[i]*(1-p[i])+0.5))$ #Pearson residuals for the real data  $C.new[i] \sim dbin(p[i], N[i])$ #create replicate dataset, ideal because created from model parameters resid.new[i] <- (C.new[i]-N[i]\*p[i])/sqrt(N[i]\*p[i]\*(1-p[i])+0.5)) #Pearson residuals for the replicate (ideal) data

```
D[i] \leq pow(resid[i],2)
                                                                               #squared Pearson residuals
 D.new[i] <- pow(resid.new[i], 2)
}
#discrepancy measures
fit <- sum(resid[])
fit.new <- sum(resid.new[])
}"
writeLines(modelstring,con="~/Documents/Stages theses/These Clementine/Article master/Oikos/Revisions/Effect size.jags")
## 2) Data list
jags.data <- list(C = dead, N = all, x = scale(as.numeric(Data$Body_length))[,1], n = nrow(Data))#
## 3) Initial values
inits <- function(){list(alpha = rnorm(1), beta = rnorm(1))}
## 4) Parameters monitored
parameters <- c("alpha", "beta", "sigma", "mu", "size", "d", "fit", "fit.new")
## 5) MCMC settings
ni <- 50000
nt <- 5
nb <- 40000
nc <- 3
#model
library(jagsUI)
mod <- jags(jags.data, inits, parameters,
"~/Documents/Stages_theses/These_Clementine/Article_master/Oikos/Revisions/Effect_size.jags", n.chains = nc, n.thin = nt, n.iter = ni,
n.burnin = nb, n.adapt = 2000, parallel = TRUE) #
## Goodness of fit plot (posterior predictive check)
plot(mod$sims.list$fit,mod$sims.list$fit.new, xlab = "True residuals", ylab = "Ideal residuals", axes = FALSE, cex.lab = 1.3, main =
"Posterior predictive check for model 1")
abline(a = 0, b = 1, col = "red")
axis(side=1)
axis(side=2)
## Bayesian p-value
mean(mod$sims.list$fit > mod$sims.list$fit.new)
##model parameters and convergence checks
print(mod)
plot(mod)
#bilateral t-test
ifelse(mean(mod$sims.list$d)<1, 2*length(mod$sims.list$d[mod$sims.list$d>1])/length(mod$sims.list$d),
```

2\*length(mod\$sims.list\$d[mod\$sims.list\$d > 1])/length(mod\$sims.list\$d))

# Appendix 8

### Script 4, Oikos02877\_Morphometrics\_analyses.R

##### Statistical analyses for oikos article: Part III links between medaka body shape and predatory performance ####
setwd("C:/Users/clementine/Dropbox/These/Articles\_prep/Article\_M2/Data\_and\_Scripts")
source("Functions/Oikos02877\_Morphotools.R") #Contains all fonctions usefull for morphometrical analyses
#From A. Le Rouzic 2013 adapted A. Coghlan 2010 (CC-BY 3.0 Liccense)
##### I: BODY SHAPE COMPONENTS #####

#Fish identification
data<-read.table(file="Data/OikosData/Oikos\_SizeEffect.txt", header=T, sep="\t", dec=".", na.strings="NA")
#fish informations
summary(data)
data\$Exp<-as.factor(as.character(data\$Exp))
data\$Sample<-as.factor(as.character(data\$Sample))
#fish name
dat<-aggregate(NbC ~ Exp + Sample + Sex, data, FUN= mean)
#aggregate data per fish</pre>

#Fish shape

Medaklat<-readland.tps(file="Data/OikosData/Oikos\_lateral.tps") # lateral medaka body shape Medaklat <- Medaklat[-9,,] #belly point remove because fish was photographed after the experiment (after they ate) slid.L <- rbind(c(6,3,4), c(3,4,5), c(4,5,6), c(5,6,3), c(13,14,15), c(14,15,16), c(15,16,17), c(16,17,18)) #sliding points coordinates

Medakdo<-readland.tps(file="Data/OikosData/Oikos\_dorsal.tps") #dorsal medaka body shape slid.D<- rbind(c(8,1,7), c(3,5,4), c(3,6,4), c(1,7,2), c(9,2,7), c(11,13,15), c(11,17,15), c(15,19,21), c(19,21,20), c(21,20,18), c(14,18,20), c(10,16,14),c(10,12,14))

#GPA transformations
x11()
par(mfrow=c(1,2))
GPAMedaklat<-gpagen(Medaklat, curves=slid.L)
#GPA generalized procruste analyse for lateral view with sliding landmarks specification
points(mshape(GPAMedaklat\$coords),pch=21,col="red",bg="red",cex=1.2); title("Consensus for lateral shape")
#draw consensus (average shape) and variability
#GPAMedaklat\$coords #aligned coordinates in an array
#GPAMedaklat\$Csize #Centroid size for each fish
Medaklat<-array2mat(GPAMedaklat\$coords) # aligned coordinates in an matrix for statistical analyses
logsizelat<-log(GPAMedaklat\$Csize) #centroid size in log for statistical analyses</pre>

GPAMedak<-gpagen(Medakdo, curves=slid.D) #GPA generalized procruste analyse for lateral view with sliding landmarks specification points(mshape(GPAMedak\$coords),pch=21,col="red",bg="red",cex=0.8); title("Consensus for dorsal/head shape") #draw consensus (average shape) and variability Medakdo<-array2mat(GPAMedak\$coords) logsizedo<-log(GPAMedak\$Csize)

##### TEST OF THE ALLOMETRY (shape variation with size variation) ####
#MANOVA between body shape and size of the fish
summary(manova(Medaklat[c(1:60),c(1:34)]~logsizelat\*dat\$Exp+logsizelat\*dat\$Sex))
#no allometric difference between Sex or between Exp
#but female and male didn't have the same global shape
summary(manova(Medaklat[c(1:60),c(1:34)]~logsizelat)) # on the lateral view, all fish and body size

summary(manova(Medakdo[c(1:60),c(1:38)]~logsizedo\*dat\$Exp+logsizelat\*dat\$Sex)) #no allometric difference between Sex or between Exp summary(manova(Medakdo[c(1:60),c(1:38)]~logsizedo)) # on dorsal view, all fish and body size

#### SEPARATION OF ALLOMETRIC SHAPE AND ALLOMETRY-FREE SHAPE #### Imlat<-Im(Medaklat~logsizelat)

25/41

#multivariate regression between lateral body shape and size, #intercept=mean for each landmarks
coordlat.res<-lmlat\$residuals #residuals = allometry-free shape
lmlatpredit<-predict(lmlat,type="response") #predict values = allometric shape</pre>

lmdo<-lm(Medakdo~logsizedo)

#multivariate regression between dorsal body shape and size, #intercept=mean for each landmarks coorddo.res<-Imdo\$residuals #residuals = allometry-free shape Imdopredit<-predict(Imdo, type="response") #predict values = allometric shape</pre>

#Quantification of each component in the shape variation a<-sum(diag(cov(lmlatpredit))) #generalized variance of allometric shape component b<-sum(diag(cov(Medaklat))) #generalized variance of shapes (overall) 100\*((b-a)/b) # 79% variance of allometry free shape in lateral view 100\*(a/b) #20% variance in shape due to allometric component in lateral view

a<-sum(diag(cov(lmdopredit))) #generalized variance of allometric shape component b<-sum(diag(cov(Medakdo))) #generalized variance of shapes (overall) 100\*((b-a)/b) # 89% variance of allometry free shape in dorsal view 100\*(a/b) #11% variance in shape due to allometric component in dorsal view

##### II: LINK BETWEEN PREDATION EFFICIENCY AND FISH SHAPE ####
#Variables, zooplankton counts and proportion eaten
ZooP<-read.table(file="Data/OikosData/Oikos\_Zoop\_prop.txt", header=TRUE, sep=" ", dec=".")
summary(ZooP)
dim(ZooP) # p=5 k=1 et n=60 with p=Nb landmarks or Nb variables, k=landmark dimension and n=nb fish</pre>

#Paste lateral and dorsal shape coordtotbrut<-cbind(Medakdo, Medaklat) #21\*2+19\*2 Global shape coordtot<-cbind(coorddo.res,coordlat.res) #21\*2+19\*2 Allometry free shape coordallomtot<-cbind(Imdopredit, Imlatpredit) #Allometric shape</pre>

x11() par(mfrow=c(1,3)) #Two-blocks PLS analyses #Global shape and predation efficiency my2BPLS(Medaklat) #S, pval=0.00059994, cor=0.6033088 my2BPLS(Medakdo) #S, pval=9.999e-05, cor=0.6896597 my2BPLS(coordtotbrut) #S, pval=0.00019998, cor=0.7187194

#Allometry free shape and predation efficiency my2BPLS(coordlat.res) #NS, pval=0.8948105, cor=0.3037726 my2BPLS(coorddo.res) #NS, pval=0.2779722, cor=0.4553634 my2BPLS(coordtot) #NS, pval=0.4982502, cor=0.4808132

# Allometric shape and predation efficiency my2BPLS(Imlatpredit) #S, pval=9.999e-05, cor=0.77624 my2BPLS(Imdopredit) #S, pval=9.999e-05, cor=0.8032631 my2BPLS(coordallomtot) #S, pval=9.999e-05, cor=0.7969163

# Appendix 9

# Script 5, Oikos02877\_Supplementary\_analyses.R

#### Supplementary statistical analyses for oikos article #### setwd("C:/Users/clementine/Dropbox/These/Articles\_prep/Article\_M2/Data\_and\_Scripts")

####I: Splitter effect on zooplankton Area #### dat<-read.table("Data/OikosData/Oikos\_supplementary\_splitter\_test.txt", header=TRUE, sep="\t", dec=".", na.strings="NA") summary(dat)

#### On Daphnia ####
Daph<-dat[dat\$Category=="daphnidae",]
x11()
par(mfrow=c(1,3))
plot(density(log(Daph\$Area[Daph\$Side=="a"])), "Log Daphnia area distribution")
#Daphnia area distribution visualisation between the two branch of the splitter device
lines(density(log(Daph\$Area[Daph\$Side=="b"])), col="red")
legend("topright", c("left branch", "right branch"), pch=c(16,16), col=c(1,2))</pre>

library(nlme)
modDa<-lme(log(Area)~Side, random=list(Split=pdDiag(form=~1)), data=Daph)
summary(modDa)
anova(modDa, test="F")
cor(log(Daph\$Area), predict(modDa))^2 #one way to calculate pseudo-R<sup>2</sup>
1 - with(Daph, (sum((log(Area)-predict(modDa))^2)/sum((log(Area)-mean(log(Area)))^2))) #other way

#### On Copepodites ####
Cope<-dat[dat\$Category=="copepodites",]
plot(density(log(Cope\$Area[Cope\$Side=="a"])), "Log Copepodites area distribution")
#Copepodites area distribution visualisation between the two branch of the splitter device
lines(density(log(Cope\$Area[Cope\$Side=="b"])), col="red")</pre>

library(nlme) modCop<-lme(log(Area)~Side, random=list(Split=pdDiag(form=~1)), data=Cope) summary(modCop) # -0.296652 et p=0.0095 anova(modCop, test="F") cor(log(Cope\$Area), predict(modCop))^2

#### On Nauplii ####
Naup<-dat[dat\$Category=="naup",]
plot(density(log(Naup\$Area[Naup\$Side=="a"])), "Log Nauplii area distribution")
lines(density(log(Naup\$Area[Naup\$Side=="b"])), col="red")</pre>

library(nlme) modNau<-lme(log(Area)~Side, random=list(Split=pdDiag(form=~1)), data=Naup) summary(modNau) anova(modNau, test="F") cor(log(Naup\$Area), predict(modNau))^2

#### On Copepods #### Cope<-cbind(Cope[,c(2:4,6,7)], Zoo=c(rep("cop",dim(Cope)[1]))) Naup<-cbind(Naup[,c(2:4,6,7)], Zoo=c(rep("naup",dim(Naup)[1]))) ZooP<-rbind(Cope,Naup)</pre>

ZooP\$Zoo<-relevel(ZooP\$Zoo, "naup") #young nauplii stage of copepod as the reference library(nlme) modCops<-lme(log(Area)~Side\*Zoo, random=list(Split=pdDiag(form=~1)), data=ZooP) summary(modCops) # 0.020315 et p=0.1759 anova(modCops, test="F") cor(log(ZooP\$Area), predict(modCops))^2 #selection of the best model m2<-lme(log(Area)~Side+Zoo, random=list(Split=pdDiag(form=~1)), data=ZooP) m3<-lme(log(Area)~Side, random=list(Split=pdDiag(form=~1)), data=ZooP) m4<-lme(log(Area)~Zoo, random=list(Split=pdDiag(form=~1)), data=ZooP) AIC(modCops, m2, m3, m4) #Keep modCops ##### II: Splitter effect on zooplankton counts #### count<-read.table(file="Data/OikosData/Oikos supplementary splitter test count.txt", header=TRUE, sep="\t", dec=".", na.strings="NA") summary(count) #### On Daphnia #### #### With 3 size class Daph<-count[count\$Zoo=="Daph",] m1=glm(Count~Side\*as.numeric(as.character(Category)),data=Daph,family="quasipoisson") summary(m1) #Example of selection model procedure based on dqAIC criteria (delta quasi-AIC criteria see Bolker 2014, #Dealing with quasi-models in R") #Production of several models m2=glm(Count~Side+as.numeric(as.character(Category)),data=Daph,family="quasipoisson") m3=glm(Count~as.numeric(as.character(Category)),data=Daph,family="quasipoisson") m4=glm(Count~Side,data=Daph,family="quasipoisson") glmQ1=update(m1, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ2=update(m2, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ3=update(m3, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ4=update(m4, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) librarv(bbmle) ICtab(glmQ4, glmQ3, glmQ2, glmQ1, dispersion=dfun(m4), type="qAIC") #compute dqAIC # Choose the best model with the smallest dqAIC (at least 2 points if not choose the most parcimonious model) #Best model= m3, just with size classes difference on the data count (less large Daphnia in all sample) #summary(m3) #### Without size class Daph2<-aggregate( Count ~ Side+Split, data=Daph, sum) m1=glm(Count~Side, data=Daph2, family="quasipoisson") summary(m1) # bootstraps:re-sampling among observations X=NULL for(i in 1:500){ dat=rbind(Daph2[sample(c(1:9),4),],Daph2[sample(c(10:18),4),]) m=glm(Count~Side,data=dat,family="quasipoisson") X=rbind(X,data.frame(coef(m)[2])) } #proportion (2\*sum(X\$coef.m..2.<0))/length(X\$coef.m..2.) #NS #### On Copepods #### #### With stage class

### 28/41

Cop<-count[count\$Zoo=="Cop",] summary(Cop) m1=glm(Count~Side\*Category,data=Cop,family="quasipoisson") summary(m1) #Example of selection model procedure based on dqAIC criteria (delta quasi-AIC criteria see Bolker 2014, #Dealing with quasi-models in R") #Production of several models m2=glm(Count~Side+Category,data=Cop,family="quasipoisson") m3=glm(Count~Category,data=Cop,family="quasipoisson") m4=glm(Count~Side,data=Cop,family="quasipoisson") glmQ1=update(m1, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ2=update(m2, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ3=update(m3, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) glmQ4=update(m4, family="x.quasipoisson", na.action=na.fail) library(bbmle) ICtab(glmQ4, glmQ3, glmQ2, glmQ1, dispersion=dfun(m4), type="qAIC") #compute dqAIC # Choose the best model with the smallest dqAIC (at least 2 points if not choose the most parcimonious model) #Best model= m3, just with stage classes difference on the data count (less large Daphnia in all sample) #### On copepodites only Cop<-count[count\$Zoo=="Cop" & count\$Category=="copepodites",] summary(Cop) m1=glm(Count~Side, data=Cop, family="quasipoisson") summary(m1) # bootstraps:re-sampling among observations X=NULL for(i in 1:500){ dat=rbind(Cop[sample(c(1:9),4),],Cop[sample(c(10:18),4),])m=glm(Count~Side,data=dat,family="quasipoisson") X=rbind(X,data.frame(coef(m)[2])) #proportion (2\*sum(X\$coef.m..2.<0))/length(X\$coef.m..2.) #NS #### On nauplii only Cop<-count[count\$Zoo=="Cop" & count\$Category=="naup",] summary(Cop) m1=glm(Count~Side, data=Cop, family="quasipoisson") summary(m1) # bootstraps:re-sampling among observations X=NULL for(i in 1:500){ dat=rbind(Cop[sample(c(1:9),4),],Cop[sample(c(10:18),4),]) m=glm(Count~Side,data=dat,family="quasipoisson") X=rbind(X,data.frame(coef(m)[2])) 3 #proportion (2\*sum(X\$coef.m..2.<0))/length(X\$coef.m..2.) #NS #### III: Splitter effect on Phytoplankton concentration #### dat<-read.table("Data/OikosData/Oikos supplementary splitter test phyto.txt", header=TRUE, sep="\t", dec=",", na.strings="NA") summary(dat) dat\$Sample<-as.factor(as.character(dat\$Sample))

x11()

#### 29/41

plot(density(dat\$Total[dat\$Side=="a"]), "Algal concentration distribution") #Daphnia area distribution visualisation between the two branch of the splitter device lines(density(dat\$Total[dat\$Side=="b"]), col="red") legend("topright", c("left branch", "right branch"), pch=c(16,16), col=c(1,2)) library(nlme) m1=lme(Total ~ Side, random =~ 1|Sample, data=dat, na.action=na.omit) #Sample as random effect, 9 measurements for each sample summary(m1) anova(m1) # Side effect NS #### APPENDIX 4: Morphometrics tests #### source("Functions/Oikos02877\_Morphotools.R") #Contains all fonctions usefull for morphometrical analyses #From A. Le Rouzic 2013 adapted A. Coghlan 2010 (CC-BY 3.0 Liccense) #### I: DATA MANIPULATIONS AND GPA #### #fish identifications fish<- gl(11,10, labels=c("1", "2", "3", "4", "5", "6", "7", "8", "9", "10", "11")) #11 fish, 10 pictures per fish ==> 110 pictures in total length(fish) #ok repet<-as.factor(rep(1:10, 11)) #picture repetition (10 pictures of the same fish) #size group (3 size class) based on the fish body length size1<-rep(1, 20) size2<-rep(2, 50) size3<-rep(1, 40) size<- as.factor(c(size1, size2, size3))</pre> alldat.L<-cbind(fish, repet, size) alldat.L<-as.data.frame(alldat.L) alldat.L\$fish<-as.factor(alldat.L\$fish) alldat.L\$repet<-as.factor(alldat.L\$repet) alldat.D<-alldat.L #fish shape lat.tps<-readland.tps("Data/OikosData/Oikos test lateral.tps", specID="imageID") #lateral shape lat.tps<-lat.tps[-7,,] #belly point remove because fish used during main experiment was photographed after the predation (after they ate) slid.L <- rbind(c(5,3,4), c(3,4,5), c(4,5,3), c(11,12,13), c(12,13,14), c(13,14,15), c(14,15,2)) #sliding points coordinates do.tps<-readland.tps("Data/OikosData/Oikos\_test\_dorsal.tps", specID="imageID") #dorsal shape Slid<- rbind(c(3,5,4), c(3,6,4), c(1,7,2), c(8,1,7), c(9,2,7), c(10,16,14), c(11,17,15), c(10,12,14), c(11,13,15), c(16,14,18), c(17,15,19)) #sliding points coordinates pick.comparable.nb <- sapply(levels(alldat.D\$fish), function(ll) {min(c(sum(alldat.D\$fish==ll), sum(alldat.L\$fish==ll))}}) mask.D <- unlist(sapply(levels(alldat.D\$fish), function(ll) {which(alldat.D\$fish==ll)[1:pick.comparable.nb[ll]]})) mask.L <- unlist(sapply(levels(alldat.L\$fish), function(ll) {which(alldat.L\$fish==ll)[1:pick.comparable.nb[ll]]})) #GPA transformations x11() par(mfrow=c(2,2))#lateral shape proc.L.slid <- gpagen(lat.tps, curves=slid.L) #GPA generalized procruste analyse for lateral view with sliding landmarks specification points(mshape(proc.L.slid\$coords),pch=21,col="red",bg="red",cex=1.2); title("Lateral GPA with sliding LD") #draw consensus (average shape) and variability proc.L <- gpagen(lat.tps) #GPA generalized procruste analyse for lateral view without sliding landmarks specification points(mshape(proc.L\$coords),pch=21,col="red",bg="red",cex=1.2); title("Lateral GPA without sliding LD") #draw consensus (average shape) and variability #dorsal shape proc.D.slid <- gpagen(do.tps, curves=Slid)

30/41

points(mshape(proc.D.slid\$coords),pch=21,col="red",bg="red",cex=1.2);title("Dorsal GPA with sliding LD") proc.D <- gpagen(do.tps) points(mshape(proc.D\$coords),pch=21,col="red",bg="red",cex=1.2); title("Dorsal GPA without Sliding LD") #### dorsal + lateral shape proc.DL.slid <- list(coords=abind(proc.D.slid\$coords[,,mask.D], proc.L.slid\$coords[,,mask.L], rev.along=3), Csize=(proc.D.slid\$Csize[mask.D] + proc.L.slid\$Csize[mask.L])/2) proc.DL<- list(coords=abind(proc.D\$coords[,,mask.D], proc.L\$coords[,,mask.L], rev.along=3), Csize=(proc.D\$Csize[mask.D] + proc.L\$Csize[mask.L])/2) ####II: TEST OF SHAPE VARIABILITY AND FISH DISCRIMINATION #### ### Figure S4: PCA and LDA comparisons #### #### LDA and PCA with sliding LD #### x11() par(mfrow=c(3,4))lda.D.slid <- lda.run(two.d.array(proc.D.slid\$coords), grouping=alldat.D\$fish, pch=as.numeric(alldat.D\$size); title("A1:Dorsal, LDA") pca.D.slid <- pca.run(proc.D.slid, grouping=alldat.D\$fish, pch=as.numeric(alldat.D\$size), ellipse.factor=0.90); title("A2:Dorsal, PCA", cex=1.5, lwd=2) #sliding landmarks did not increase fish separations in dorsal view lda.L.slid <- lda.run(two.d.array(proc.L.slid\$coords), grouping=alldat.L\$fish, pch=as.numeric(alldat.L\$size),ellipse.factor=0.90); title("B1:Lateral, LDA") pca.L.slid<-pca.run(proc.L.slid, grouping=alldat.L\$fish, pch=as.numeric(alldat.L\$size), ellipse.factor = 0.90); title("B2:Lateral, PCA", cex=1.5, lwd=2) #sliding landmarks did not increase fish separations in lateral view lda.DL.slid <- lda.run(two.d.array(proc.DL.slid\$coords), grouping=factor(alldat.D\$fish[mask.D]), pch=as.numeric(alldat.D\$fish[mask.D]), ellipse.factor=0.90); title("C1:L+D, LDA", cex=1.5, lwd=2) pca.DL.slid <- pca.run(proc.DL.slid, grouping=factor(alldat.D\$fish[mask.D]), pch=as.numeric(alldat.D\$size[mask.D]), ellipse.factor = 0.90); title("C2:L+D, PCA", cex=1.5, lwd=2) #### LDA and PCA without sliding LD #### x11() par(mfrow=c(3,4))lda.D <- lda.run(two.d.array(proc.D\$coords), grouping=alldat.D\$fish, pch=as.numeric(alldat.D\$size)); title("A1: Dorsal view LDA") pca.D <- pca.run(proc.D, grouping=alldat.D\$fish, pch=as.numeric(alldat.D\$size), ellipse.factor=0.90); title("A2: Dorsal view PCA", cex=1.5, lwd=2) lda.L <- lda.run(two.d.array(proc.L\$coords), grouping=alldat.L\$fish, pch=as.numeric(alldat.L\$size), ellipse.factor=0.90); title("B1: Lateral view LDA", cex=1.5, lwd=2) pca.L<-pca.run(proc.L, grouping=alldat.L\$fish, pch=as.numeric(alldat.L\$size), ellipse.factor = 0.90); title("Lateral view PCA", cex=1.5, lwd=2) lda.DL<- lda.run(two.d.array(proc.DL\$coords), grouping=factor(alldat.D\$fish[mask.D]), pch=as.numeric(alldat.D\$fish[mask.D]), ellipse.factor=0.90); title("C1:L+D, LDA", cex=1.5, lwd=2) pca.DL <- pca.run(proc.DL, grouping=factor(alldat.D\$fish[mask.D])); title("C2: L+D views PCA", cex=1.5, lwd=2) ##### Figure S5: Assignement tests ####

reps <- 1000 x11() par(mfrow=c(3,3))

lda.pred.D <- predict(lda.D.slid, two.d.array(proc.D.slid\$coords))
lda.pred.L <- predict(lda.L.slid, two.d.array(proc.L.slid\$coords))
lda.pred.DL <- predict(lda.DL.slid, two.d.array(proc.DL.slid\$coords))</pre>

#### Dorsal ####

assign.D.fixed.all <- assignment.test(two.d.array(proc.D\$coords), indiv=alldat.D\$fish, reps=reps) assign.D.slid.all <- assignment.test(two.d.array(proc.D.slid\$coords), indiv=alldat.D\$fish, reps=reps) assign.D.fixed.one <- assignment.test(two.d.array(proc.D\$coords), indiv=alldat.D\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) assign.D.slid.one <- assignment.test(two.d.array(proc.D.slid\$coords), indiv=alldat.D\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE)

31/41

# LDs LDs <- 1:5 bp.lda.D <- sapply(LDs, function(nbld) {</pre> asgn.all <- assignment.test(lda.pred.D\$x[,1:nbld,drop=FALSE], indiv=alldat.D\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) asgn.only <- assignment.test(lda.pred.D\$x[,nbld,drop=FALSE], indiv=alldat.D\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) return(c(mean(asgn.all[,1]),mean(asgn.only[,1])))}) colnames(bp.lda.D) <- paste0("LD",LCs) rownames(bp.lda.D) <- c("Cumulative", "Self") barplot(bp.lda.D, beside=TRUE, legend=F, ylim=c(0,1.2), ylab="Correct assignment frequency", args.legend = list(x = "topleft"), main="A1: LDs assignment") # PCs PCs <- 1:5 bp.pca.D <- sapply(PCs, function(nbpc) {</pre> asgn.all <- assignment.test(pca.D\$x[,1:nbpc,drop=FALSE], indiv=alldat.D\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) asgn.only <- assignment.test(pca.D\$x[,nbpc,drop=FALSE], indiv=alldat.D\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) return(c(mean(asgn.all[,1]),mean(asgn.only[,1])))}) colnames(bp.pca.D) <- paste0("PC",PCs) rownames(bp.pca.D) <- c("Cumulative", "Self") barplot(bp.pca.D, beside=TRUE, legend=F, ylim=c(0,1), ylab="Correct assignment frequency", args.legend=list(x = "topleft"),main="A2: PCs assignment") assign.D.prob <- cbind(c(mean(assign.D.fixed.all[,1]), mean(assign.D.slid.all[,1])), c(mean(assign.D.fixed.one[,1]), mean(assign.D.slid.one[,1]))) colnames(assign.D.prob) <- c("Against all", "Against one picture") rownames(assign.D.prob) <- c("Fixed", "Sliding") barplot(assign.D.prob, beside=TRUE, legend=F, ylim=c(0,1), ylab="Correct assignment frequency", main="A3: Dorsal, all coordinates") #### Lateral #### assign.L.fixed.all <- assignment.test(two.d.array(proc.L\$coords), indiv=alldat.L\$fish, reps=reps) assign.L.slid.all <- assignment.test(two.d.array(proc.L.slid\$coords), indiv=alldat.L\$fish, reps=reps) assign.L.fixed.one <- assignment.test(two.d.array(proc.L\$coords), indiv=alldat.L\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) assign.L.slid.one <- assignment.test(two.d.array(proc.L.slid\$coords), indiv=alldat.L\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) # LDs LDs <- 1:5 bp.lda.L <- sapply(LDs, function(nbld) {</pre> asgn.all <- assignment.test(lda.pred.L\$x[,1:nbld,drop=FALSE], indiv=alldat.L\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) asgn.only <- assignment.test(lda.pred.L\$x[,nbld,drop=FALSE], indiv=alldat.L\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) return(c(mean(asgn.all[,1]),mean(asgn.only[,1])))}) colnames(bp.lda.L) <- paste0("LD",LDs) rownames(bp.lda.L) <- c("Cumulative", "Self") barplot(bp.lda.L, beside=TRUE, legend=TRUE, ylim=c(0,1.2), ylab="Correct assignment frequency", args.legend = list(x = "topleft"), main="B1: LDs assignment") # PCs PCs <- 1:5 bp.pca.L <- sapply(PCs, function(nbpc) { asgn.all <- assignment.test(pca.L\$x[,1:nbpc,drop=FALSE], indiv=alldat.L\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) asgn.only <- assignment.test(pca.L\$x[,nbpc,drop=FALSE], indiv=alldat.L\$fish, reps=reps, only.one.each=TRUE) return(c(mean(asgn.all[,1]),mean(asgn.only[,1])))}) colnames(bp.pca.L) <- paste0("PC",PCs) rownames(bp.pca.L) <- c("Cumulative","Self") barplot(bp.pca.L, beside=TRUE, legend=TRUE, ylim=c(0,1), ylab="Correct assignment frequency", args.legend=list(x = "topleft"), ylab="Correct assignment frmain="B2: PCs assignment") assign.L.prob <- cbind( c(mean(assign.L.fixed.all[,1]), mean(assign.L.slid.all[,1])), c(mean(assign.L.fixed.one[,1]), mean(assign.L.slid.one[,1]))) rownames(assign.L.prob) <- c("Fixed", "Sliding") colnames(assign.L.prob) <- c("Against all", "Against one picture") barplot(assign.L.prob, beside=TRUE, legend=TRUE, ylim=c(0,1), ylab="Correct assignment frequency", main="B3: Lateral, all

32/41

coordinates")

#### Combined: D+L ##### assign.DL.fixed.all <- assignment.test(two.d.array(proc.DL\$coords), indiv=alldat.D\$fish[mask.D], reps=reps) assign.DL.slid.all <- assignment.test(two.d.array(proc.DL.slid\$coords), indiv=alldat.D\$fish[mask.D], reps=reps) assign.DL.fixed.one <- assignment.test(two.d.array(proc.DL\$coords), indiv=alldat.D\$fish[mask.D], reps=reps, only.one.each=TRUE) assign.DL.slid.one <- assignment.test(two.d.array(proc.DL.slid\$coords), indiv=alldat.D\$fish[mask.D], reps=reps, only.one.each=TRUE) #LDs LDs <- 1:5 lda.pred.DL <- predict(lda.DL, two.d.array(proc.DL\$coords)) bp.lda.DL <- sapply(LDs, function(nbld) {</pre> asgn.all <- assignment.test(lda.pred.DL\$x[1:nbld,drop=FALSE], indiv=alldat.D\$fish[mask.D], reps=reps, only.one.each=TRUE) asgn.only <- assignment.test(lda.pred.DL\$x[,nbld,drop=FALSE], indiv=alldat.D\$fish[mask.D], reps=reps, only.one.each=TRUE) return(c(mean(asgn.all[,1]),mean(asgn.only[,1])))}) colnames(bp.lda.DL) <- paste0("LD",LDs) rownames(bp.lda.DL) <- c("Cumulative","Self") barplot(bp.lda.DL, beside=TRUE, legend=F, ylim=c(0,1.2), ylab="Correct assignment frequency", args.legend = list(x = "topleft"),main="C1: LDs assignment") # PCs PCs <- 1:5 bp.pca.DL <- sapply(PCs, function(nbpc) {</pre> asgn.all <- assignment.test(pca.DL\$x[,1:nbpc,drop=FALSE], indiv=alldat.D\$fish[mask.D], reps=reps, only.one.each=TRUE) asgn.only <- assignment.test(pca.DL\$x[,nbpc,drop=FALSE], indiv=alldat.D\$fish[mask.D], reps=reps, only.one.each=TRUE) return(c(mean(asgn.all[,1]),mean(asgn.only[,1])))}) colnames(bp.pca.DL) <- paste0("PC",PCs) rownames(bp.pca.DL) <- c("Cumulative","Self") barplot(bp.pca.DL, beside=TRUE, legend=F, ylim=c(0,1), ylab="Correct assignment frequency", args.legend = list(x = "topleft"), respectively.legend=F, ylim=c(0,1), ylab="Correct assignment frequency", args.legend=F, ylim=c(0,1), ylim=c(0,main="C2: PCs assignment") assign.DL.prob <- cbind( c(mean(assign.DL.fixed.all[,1]), mean(assign.DL.slid.all[,1])), c(mean(assign.DL.fixed.one[,1]), mean(assign.DL.slid.one[,1]))) rownames(assign.DL.prob) <- c("Fixed", "Sliding") colnames(assign.DL.prob) <- c("Against all", "Against one picture") barplot(assign.DL.prob, beside=TRUE, legend=F, ylim=c(0,1), ylab="Correct assignment frequency", main="C3: D+L, all coordinates") #### Figure S6: partitionning variance #### x11() par(mfrow=c(3,2))#### Dorsal #### LDs <- 1:10 vpart.ld.D <- NULL lda.pred.D <- predict(lda.D.slid, two.d.array(proc.D.slid\$coords)) for (pp in LDs) { aa <- anova(lm(lda.pred.D\$x[,pp] ~ proc.D.slid\$Csize + alldat.D\$fish)) vpart.ld.D <- rbind(vpart.ld.D, aa\$'Sum Sq') rownames(vpart.ld.D) <- paste0("LD", LDs) colnames(vpart.ld.D) <- c("Allometry", "Fish shape", "Photo") barplot(t(vpart.ld.D), ylab="Sum of squares", las=2, main="A1: Dorsal, LDA Components") PCs <- 1:10 vpart.pc.D <- NULL for (pp in PCs) {  $aa \le anova(lm(pca.D.slid$x[,pp] ~ proc.D.slid$Csize + alldat.D$fish))$ vpart.pc.D <- rbind(vpart.pc.D, aa\$'Sum Sq')</pre> } rownames(vpart.pc.D) <- paste0("PC", PCs) colnames(vpart.pc.D) <-c("Allometry", "Fish shape", "Stochasticity")

33/41

barplot(t(vpart.pc.D), ylab="Sum of squares", las=2, main="A2: Dorsal, PCA Components") #Example to how calculate explained variance per components dim(vpart.pc.D); sum(vpart.pc.D) dim(vpart.pc.D[,c(1,2)]); sum(vpart.pc.D[,c(1,2)]) sum(vpart.pc.D[,c(1,2)])/sum(vpart.pc.D) sum(vpart.pc.D[c(1,2),c(1,2)])/sum(vpart.pc.D[c(1,2),]) #### Lateral #### LDs <- 1:10 vpart.ld.D <- NULL lda.pred.L <- predict(lda.L.slid, two.d.array(proc.L.slid\$coords)) for (pp in LDs) { aa <- anova(lm(lda.pred.L\$x[,pp] ~ proc.L.slid\$Csize + alldat.L\$fish)) vpart.ld.D <- rbind(vpart.ld.D, aa\$'Sum Sq')</pre> } rownames(vpart.ld.D) <- paste0("LD", LDs) colnames(vpart.ld.D) <- c("Allometry", "Allometry-free component", "Stochasticity") barplot(t(vpart.ld.D), legend.text=colnames(vpart.ld.D), ylab="Sum of squares", las=2, main="B1: Lateral, LDA Components") PCs <- 1:10 vpart.pc.D <- NULL for (pp in PCs) { aa <- anova(lm(pca.L.slid\$x[,pp] ~ log(proc.L.slid\$Csize) + alldat.L\$fish), test="F") vpart.pc.D <- rbind(vpart.pc.D, aa\$'Sum Sq')</pre> } rownames(vpart.pc.D) <- paste0("PC", PCs) colnames(vpart.pc.D) <-c("Allometry", "Allometry-free component", "Stochasticity") barplot(t(vpart.pc.D), legend.text=colnames(vpart.pc.D), ylab="Sum of squares", las=2, main="B2: Lateral, PCA Components") #### combined #### LDs <- 1:10 vpart.ld.D <- NULL lda.pred.DL <- predict(lda.DL.slid, two.d.array(proc.DL.slid\$coords)) for (pp in LDs) { aa <- anova(lm(lda.pred.DL\$x[,pp] ~ proc.DL.slid\$Csize + alldat.L\$fish)) vpart.ld.D <- rbind(vpart.ld.D, aa\$'Sum Sq')</pre> } rownames(vpart.ld.D) <- paste0("LD", LDs) colnames(vpart.ld.D) <- c("Allometry", "Fish shape", "Photo") barplot(t(vpart.ld.D), ylab="Sum of squares", las=2, main="C1: D+L, LDA Components") PCs <- 1:10 vpart.pc.D <- NULL for (pp in PCs) { aa <- anova(lm(pca.DL.slid\$x[,pp] ~ log(proc.DL.slid\$Csize) + alldat.D\$fish[mask.D]), test="F") vpart.pc.D <- rbind(vpart.pc.D, aa\$'Sum Sq') } rownames(vpart.pc.D) <- paste0("PC", PCs) colnames(vpart.pc.D) <-c("Allometry", "Fish shape", "Photo") barplot(t(vpart.pc.D), ylab="Sum of squares", las=2, main="C2: D+L, PCA Components")

# Appendix 10 Functions 1, Oikos02877\_Quasiglm.R

#### useful functions for quasi glm ####

# from Bolker 2014 "Dealing with quasi-models in R" R documentation, vignette for "bblme" package

```
# AIC extraction quasi-poisson model (overdispersed)
x.quasipoisson<-function (...){
 res=quasipoisson(...)
 res$aic=poisson(...)$aic
 res
}
#AIC extraction quasi-binomial model (overdispersed)
x.quasibino<-function (...){
 res=quasibinomial(...)
 res$aic=binomial(...)$aic
 res
}
#Overdispersion parameter extraction
dfun<-function(object){
 with(object, sum((weights*residuals^2)[weights>0])/df.residual)
}
```

# Appendix 11

# Functions 2, Oikos02877\_Morphotools.R

```
# Various functions for multivariate analysis
#
# Copyright A. Le Rouzic 2013
# Copyright A. Coghlan 2010 (CC-BY 3.0 Liccense)
#
# The content is under Creative Commons Attribution 3.0 licence for compatibility with the
# code by A. Coghlan
library("geomorph")
library("abind")
library("MASS")
library("lattice")
library("ellipse")
"makeTransparent"<-function(someColor, alpha=0)
ł
 newColor<-col2rgb(someColor)
 apply(newColor, 2, function(curcoldata){rgb(red=curcoldata[1], green=curcoldata[2],
  blue=curcoldata[3],alpha=alpha, maxColorValue=255)})
}
"proc.residuals" <- function(gpa) {
         # routine to detect outliers: provides the sum of squares of Procruste 2D residuals
         grandmeans <- apply(gpa$coords, c(1,2), mean)
         proc.resid <- apply(gpa$coords, 3, function(mat) {sqrt(apply((mat-grandmeans)^2, 1, sum))})
         return(apply(proc.resid, 2, sum))
}
"pca.run" <- function(gpa, plot=TRUE, PCx=1, PCy=2, xlab=paste0("PC",PCx), ylab=paste0("PC",PCy), grouping=NULL, col=NULL,
ellipse.factor = 0.95, prefix="", ...) {
         pca <- prcomp(two.d.array(gpa$coords), scale.=TRUE)</pre>
 print(grouping)
         if (plot) {
                   #layout(t(1:2))
                   if (is.null(col)) {
                            if (is.null(grouping)) {
                                      col <- "black"
                             } else {
                                      col <- grouping
                   plot(x=pca$x[,PCx], y=pca$x[,PCy], type="p", xlab=xlab, ylab=ylab, col=col, ...)
                   if ((!is.null(grouping)) && ellipse.factor > 0) {
                            require("ellipse")
                            for (ind in levels(grouping)) {
                                      sub.x <- pca$x[grouping == ind, PCx]</pre>
                                      sub.y <- pca$x[grouping == ind, PCy]</pre>
                                      ell <- ellipse(cor(sub.x, sub.y), centre=c(mean(sub.x), mean(sub.y)),
                                                scale=c(sd(sub.x), sd(sub.y)), npoints=1000, level=ellipse.factor)
    #print(ell)
                                      polygon(ell, col=makeTransparent(col[which(grouping == ind)[1]], alpha=20))
                             3
                   plot(NULL, xlim=1.1*range(pca$rotation[,PCx]), ylim=1.1*range(pca$rotation[,PCy]), xlab=xlab, ylab=ylab)
                                                                                                                              36/41
```

```
arrows(x0=0, y0=0, x1=pca$rotation[,PCx], y1=pca$rotation[,PCy])
                    text(x=pca$rotation[,PCx], y=pca$rotation[,PCy], paste0(prefix, rep(1:(ncol(pca$x)/2), each=2), c("x","y")),
pos=ifelse(pca$rotation[,PCy] < 0, 1, 3))
                    #layout(1)
          }
          return(pca)
}
"lda.run" <- function(datamatrix, grouping, plot=TRUE, LDx=1, LDy=2, col.1=grouping, xlab=paste0("LD", LDx),
ylab=paste0("LD",LDy), ellipse.factor=0.95, prefix="", plot.factors=TRUE, ...) {
          lda <- lda(datamatrix, grouping=grouping)
          lda.predict <- predict(lda, as.data.frame(datamatrix))
          if (plot) {
                    if (plot.factors)
                    #
                             layout(t(1:2))
                   plot(x=lda.predict$x[,LDx], y=lda.predict$x[,LDy], type="p", col=col.1, xlab=xlab, ylab=ylab, ...)
                    if (ellipse.factor > 0) {
                              require("ellipse")
                             for (ind in levels(grouping)) {
                                       sub.x <- lda.predict$x[grouping == ind, LDx]
                                       sub.y <- lda.predict$x[grouping == ind, LDy]
                                       ell <- ellipse(cor(sub.x, sub.y), centre=c(mean(sub.x), mean(sub.y)),
                                                 scale=c(sd(sub.x), sd(sub.y)), npoints=1000, level=ellipse.factor)
                                       polygon(ell, col=makeTransparent(col.1[which(grouping == ind)[1]], alpha=20))
                              3
                    }
                    if (plot.factors) {
                             plot(NULL, xlim=1.1*range(lda$scaling[,LDx]), ylim=1.1*range(lda$scaling[,LDy]), xlab=xlab,
ylab=ylab)
                             arrows(x0=0, y0=0, x1=lda$scaling[,LDx], y1=lda$scaling[,LDy])
                             text(x=lda$scaling[,LDx], y=lda$scaling[,LDy], paste0(prefix, rep(1:(nrow(lda$scaling)/2), each=2),
c("x","y")), pos=ifelse(lda$scaling[,LDy] < 0, 1, 3))
                    }
          3
          return(lda)
}
"goodbadlandmarks" <- function(datamat, grouping, main="Average r2") {
          means <- apply(datamat, 2, mean)</pre>
          datamat <- t((t(datamat) - apply(datamat, 2, mean)))
          variances <- calcSeparations2(datamat, grouping)
          sumVb <- apply(matrix(variances$Vb, ncol=2, byrow=TRUE), 1, sum)</pre>
          sumVw <- apply(matrix(variances$Vw, ncol=2, byrow=TRUE), 1, sum)
          sumV <- apply(matrix(apply(datamat,2,var), ncol=2, byrow=TRUE), 1, sum)</pre>
          sep.by.point <- variances$Vb / variances$Vw
          r2 <- variances$Vb / (variances$Vb + variances$Vw)
          coords.mean <- matrix(means, ncol=2, byrow=TRUE)
          col.func <- colorRampPalette(c("blue","red"))</pre>
          xx \le seq(1, ncol(datamat)-1, by=2)
          yy \leq seq(2, ncol(datamat), by=2)
```

```
plot(means[xx], means[yy], type="p", col=col.func(1000)[findInterval(0.5*(r2[xx]+r2[yy]),
vec=seq(0,max(0.5*(r2[xx]+r2[yy])),length.out=1000))], pch=16, cex=3, main=main, xlab="", ylab="", xaxt="n", yaxt="n", asp=1,
ylim=c(min(means[yy])-0.2*diff(range(means[yy])), max(means[yy])))
                  text(means[xx], means[yy], round(0.5*(r2[xx]+r2[yy]), 2), pos=1, cex=0.8)
 }
"assignment.dist" <- function(focal.coords, all.coords, ...) {
                  if (ncol(all.coords) != length(focal.coords)) stop("Wrong data for assignment")
                  dd <- as.matrix(dist(rbind(all.coords, focal.coords), ...))
                  return(dd[nrow(dd), 1:(ncol(dd)-1)])
}
"assignment.test" <- function(all.coords, indiv, only.one.each=FALSE, reps=100, ...) {
                  # ... are arguments to the "dist" function
                  if (is.null(indiv) || length(indiv) != nrow(all.coords))
                                    stop("A proper vector of individuals has to be provided")
                  indiv <- as.factor(indiv)
                  require(parallel)
                  ans <- mclapply(1:reps, function(rr) {
                                    focal <- sample(1:nrow(all.coords), size=1)</pre>
                                    focal.indiv <- indiv[focal]</pre>
                                    if (only.one.each) {
                                                      sampled.indiv <- sapply(levels(indiv), function(ii) {</pre>
                                                                        ww <- which(indiv == ii)
                                                                        if (length(ww)==1) return(ww) else return(sample(ww, size=1)) })
                                                      di <- assignment.dist(focal.coords=all.coords[focal,,drop=FALSE],
all.coords=all.coords[sampled.indiv,,drop=FALSE], ...)
                                    } else {
                                                      di.full <- assignment.dist(focal.coords=all.coords[focal.drop=FALSE], all.coords=all.coords[-
focal,,drop=FALSE], ...)
                                                      di <- tapply(di.full, INDEX=indiv[-focal], FUN=mean)
                                    got.it <- FALSE
                                    if (levels(indiv)[which.min(di)] == focal.indiv) got.it <- TRUE
                                    di2 <- di[levels(indiv) != focal.indiv]
                                    rel.dist.best <- (di[levels(indiv] == focal.indiv] - min(di2))/sd(di)
                                    return(c(got.it=got.it, rel.dist.best=rel.dist.best))
                  }, mc.cores=1) #avant mc.cores=8 alors gros bug sur mon ordi!
                  return(do.call(rbind, ans))
}
"plot.picandmarks" <- function(pic.file, datarray, alldat, slid=NULL, scale=10000, numbers=TRUE, res=c(1000,1000), prefix="",
col="red") {
                  decomp <- unlist(strsplit(pic.file, split="[ .]"))</pre>
                  ID \leq decomp[5]
                  indiv.index <- which(alldat$ID == ID & alldat$digit==1)
                  dat <- datarray[,,indiv.index]
                  require(jpeg)
#∼
                  require(biOps)
                  img <- readJPEG(pic.file, native=TRUE)
                  op <- par(mar=c(0,0,0,0))
                  xr \leq scale * range(dat[,1])
                  yr \leq scale*range(dat[,2])
                  plot(NULL, xlim=c(xr[1]-0.1*diff(xr), xr[2]+0.1*diff(xr)), ylim=c(yr[1]-0.1*diff(yr), yr[2]+0.1*diff(yr)), type="n", asp=1, ylim=c(xr[1]-0.1*diff(yr), yr[2]+0.1*diff(yr)), type="n", asp=1, ylim=c(yr[1]-0.1*diff(yr), yr[2]+0.1*diff(yr)), type="n", asp=1, yr[1]-0.1*diff(yr)), type="n", asp=1, yr[1]-0.1*d
xlab="", ylab="", xaxt="n", yaxt="n", bty="n")
```

38/41

```
rasterImage(img, 1, 1, dim(img)[2], dim(img)[1], interpolate=FALSE)
          if (is.null(slid)) {
                    points(scale*dat[,1], scale*dat[,2], pch=1, col=col)
          } else {
                    points(scale*dat[-slid,1], scale*dat[-slid,2], pch=1, col=col)
                    points(scale*dat[slid,1], scale*dat[slid,2], pch=19, col=col)
          if(numbers) {
                    text(scale*dat[,1], scale*dat[,2], paste0(prefix,as.character(1:nrow(dat))), col=col, pos=2)
          }
          par(op)
}
# Code by A. Coghlan from
# http://little-book-of-r-for-multivariate-analysis.readthedocs.org
# /en/latest/src/multivariateanalysis.html
"calcWithinGroupsVariance" <- function(variable,groupvariable)
 {
   # find out how many values the group variable can take
   groupvariable2 <- as.factor(groupvariable[[1]])
   levels <- levels(groupvariable2)
   numlevels <- length(levels)
   # get the mean and standard deviation for each group:
   numtotal <-0
   denomtotal <- 0
   for (i in 1:numlevels)
     leveli <- levels[i]
     levelidata <- variable[groupvariable==leveli]
     levelilength <- length(levelidata)</pre>
     # get the standard deviation for group i:
     sdi <- sd(levelidata)
     numi <- (levelilength - 1)*(sdi * sdi)
     denomi <- levelilength
     numtotal <- numtotal + numi
     denomtotal <- denomtotal + denomi
   # calculate the within-groups variance
   Vw <- numtotal / (denomtotal - numlevels)
   return(Vw)
 }
"calcBetweenGroupsVariance" <- function(variable,groupvariable)
 ł
   # find out how many values the group variable can take
   groupvariable2 <- as.factor(groupvariable[[1]])
   levels <- levels(groupvariable2)</pre>
   numlevels <- length(levels)
   # calculate the overall grand mean:
   grandmean <- mean(variable)</pre>
   # get the mean and standard deviation for each group:
   numtotal <-0
   denomtotal \leq 0
   for (i in 1:numlevels)
     || eveli < - || evels[i]|
     levelidata <- variable[groupvariable==leveli]
     levelilength <- length(levelidata)
     # get the mean and standard deviation for group i:
     meani <- mean(levelidata)</pre>
```

```
39/41
```

```
sdi <- sd(levelidata)
    numi <- levelilength * ((meani - grandmean)^2)
    denomi <- levelilength
    numtotal <- numtotal + numi
    denomtotal <- denomtotal + denomi
   # calculate the between-groups variance
   Vb <- numtotal / (numlevels - 1)
   Vb <- Vb[[1]]
   return(Vb)
 }
"calcSeparations" <- function(variables,groupvariable, verbose=FALSE)
 {
   # find out how many variables we have
   variables <- as.data.frame(variables)</pre>
   numvariables <- length(variables)</pre>
   # find the variable names
   variablenames <- colnames(variables)
   # calculate the separation for each variable
   ans <- data.frame()
   for (i in 1:numvariables)
   {
    variablei <- c(variables[, i])</pre>
    variablename <- variablenames[i]
    Vw <- calcWithinGroupsVariance(variablei, groupvariable)
    Vb <- calcBetweenGroupsVariance(variablei, groupvariable)
    sep <- Vb/Vw
                   if (verbose) {
                             print(paste("variable",variablename,"Vw=",Vw,"Vb=",Vb,"separation=",sep))
    ans <- rbind(ans, data.frame(Vw=Vw, Vb=Vb, sep=sep))
   rownames(ans) <- variablenames
   return(ans)
 }
"calcSeparations2" <- function(variables,groupvariable, verbose=FALSE)
 ł
   # find out how many variables we have
   variables <- as.data.frame(variables)
   numvariables <- length(variables)</pre>
   # find the variable names
   variablenames <- colnames(variables)</pre>
   # calculate the separation for each variable
   ans <- data.frame()
   for (i in 1:numvariables)
    variablei <- c(variables[, i])</pre>
    variablename <- variablenames[i]
    ll \le anova(lm(I(variablei - mean(variablei)) \sim groupvariable + 0))
    Vw <- ll[["Sum Sq"]][2]
    Vb <- ll[["Sum Sq"]][1]
    sep <- Vb/Vw
                   if (verbose) {
                             print(paste("variable",variablename,"Vw=",Vw,"Vb=",Vb,"separation=",sep))
    ans <- rbind(ans, data.frame(Vw=Vw, Vb=Vb, sep=sep))
   }
   rownames(ans) <- variablenames
```

#### 40/41

```
return(ans)
}
"array2mat" <- function(arr) {
#transform array into matrix
bb<- function(x) x <- c(t(x))
out <- t(apply(arr,3,bb))
return(out)
}
"my2BPLS" <- function(mat) {
#Make 2 block PLS analyses and print statistical results
ans <- two.b.pls(mat, ZooP, warpgrids=TRUE, iter=10000, verbose=TRUE, label=dat$Sample)
print(ans$pvalue)
print(ans$PLS.cor)
}</pre>
```
# Chapitre 4 : Sélection artificielle sur la taille corporelle

#### Résumé du chapitre 4

Dans le chapitre 3 nous avons montré que les variations phénotypiques, en particulier de taille corporelle peuvent avoir des effets en cascade au moins aussi important dans les réseaux trophiques que les variations de densité. Or les activités humaines, en particulier la surexploitation, génèrent des pressions de sélection directionnelle fortes sur la taille corporelle des espèces de sommet de réseaux trophiques. Ces espèces seraient capables en réponse de s'adapter. La surexploitation serait à l'origine d'une évolution vers des tailles corporelles réduites dans un grand nombre de populations naturelles exploitées. Or la taille corporelle est un trait phénotypique corrélé à un grand nombre de traits de d'histoire de vie des individus (e.g. fécondité, maturité). Par conséquent des changements de taille pourrait être associé à des changements dans des traits qui pourrait modifier la densité des populations. Afin de pouvoir mieux prédire les effets écologiques de tels changements, leurs nature (i.e. génétique ou plastique), leurs ampleur, ainsi que leurs conséquences pour les populations restent encore à élucider. L'approche expérimentale permet (1) de souligner la nature génétique des changements, (2) de mesurer l'effet de la sélection taille-dépendante sur les traits corrélés (3) de mesurer les conséquences de ces changements pour le taux de croissance de la population (i.e. mesure de fitness).

L'objectif de cet article est d'explorer les mécanismes génétiques liés à l'évolution phénotypique rapide en réponse à la sélection taille-dépendante. Dans cet article nous avons réalisé une expérience de sélection bi-directionnelle sur la taille corporelle de médaka de 75 jours. L'évolution de 3 populations a été suivi pendant 6 générations, une lignée haute (lignée H), exploitée pour des petites tailles corporelles, une lignée basse (lignée L), exploitée pour des grandes tailles corporelles et une lignée contrôle (lignée C), exploitée pour des tailles corporelles aléatoires. Nous montrons que la taille corporelle des médakas est un trait qui peut évoluer en réponse à la sélection mais uniquement vers des tailles corporelles augmentées. Nous mettons en évidence la covariation négative du taux de croissance somatique et de l'âge à maturité sexuelle des individus qui suggère l'existence d'un trade-off génétique entre ces deux traits. Par ailleurs, nos résultats montrent qu'une diminution de la taille corporelle des individus qui se reproduisent diminue leur fitness et suggère qu'une évolution vers des tailles corporelles réduites pourrait diminuer le taux de croissance des populations exploitées. Une analyse exploratoire des mécanismes endocriniens sous-jacents à l'évolution des traits d'histoires de vie suggère que des différences de croissance somatique et de maturité pourrait être dues à des différences d'expressions d'hormones hypophysaires ou de leur récepteurs.

L'ensemble des résultats de cette expérience souligne l'importance d'étudier les conséquences évolutives des pressions de sélection anthropique qui pourraient modifier durablement un grand nombre de leur traits et finalement menacer d'extinction la population en diminuant son taux de croissance. Les modifications des traits et des abondances des populations naturelles pourraient déstabiliser les communautés et modifier le fonctionnement des écosystèmes à la base de nos services écosystémiques. Par ailleurs nos résultats montrent que des contraintes génétiques peuvent empêcher l'adaptation en réponse à une sélection taille-dépendante, en particulier pour des espèces de petite taille corporelle.

# 4.1. Article : « Direction specific phenotypic response to size – truncative selection »

## Direction specific phenotypic response to size – truncative selection

Clémentine Renneville 1, Alexis Millot 2, Simon Agostini 2, David Carmignac 1, Gersende Maugars 3, Sylvie Dufour 3, Arnaud Le Rouzic 4 and Eric Edeline 1\*

#### Running headline: Size selection experiment on medaka

1 : Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR 7618 Institut d'Ecologie et des Sciences de

l'Environnement - Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, F-75252 Paris, France

2 : CEREEP Ecotron Île-de-France, UMS CNRS ENS 3194, 78 rue du Château, 77140 Saint Pierre-lès-Nemours, France

3 : UMR BOREA MNHN, CNRS 7208, UPMC Univ Paris 06, IRD 207, UCBN, 7 rue Cuvier CP 32, F-75231 Paris, France

4 : UMR 9191 CNRS, Univ Paris-Sud, IRD, Evolution, Génomes, Comportement, Ecologie (EGCE),

Avenue de la Terrasse, F-91198 Gif-sur-Yvette, France

\* Corresponding author: <a href="mailto:eric.edeline@upmc.fr">eric.edeline@upmc.fr</a>

#### Acknowledgments

We are grateful to Prof. Kiyoshi Naruse (NIBB, Okazaki, Japan) for his support in capturing and transporting wild medaka from Japan to France, and for his advises for maintaining medaka at the CEREEP Ecotron Île-de-France. We are also thankful to Prof. Finn-Arne Weltzien for providing several primer sequences four our candidate genes. We thank the people who helped us for collect data: during the experiment: Beatriz Decencière, Julien Hirschinger, Alice Lamoureux, Alexandre Macé and Yohann Chauvier. This study was funded by Région Ile-De-France (R2DS PhD fellowship for CR), the French National Research Agency (project ANR-10-CEPL-0010 PULSE) and IDEX SUPER (project Convergences J14U257 MADREPOP). We declare that we have no competing interests.

#### <u>Summary</u>

1. Overexploitation is now recognized to be highly size truncative and currently drives a rapid collapse of exploited populations. An increasing number of studies reported that before collapse humans harvest may be responsible for a rapid change towards smaller body sizes in exploited populations. In this context, determining whether and how vertebrate body size and correlated traits respond to size-dependent selection is paramount to our ability to (i) understand the underlying mechanisms of an increase collapse risk of the exploited populations, (ii) evaluate the potential for reversibility of human-induced phenotypic changes, and (iii) predict both population and ecosystem ability to adapt to anthropogenic pressures.

2. To contribute answering these questions, we have imposed a bidirectional size-selection on medaka (*Oryzias latipes*) populations maintained during 6 generations under common garden conditions (three lines were produced: a high line (small-size harvest; H), a low line (large-size harvest; L) and a control line (random-size harvest; C). We found that medaka are able to evolve towards larger but not smaller body sizes at 75 days-post-hatch (dph). This asymmetric response to selection was accompanied by an evolution towards delayed sexual maturity in the H line, suggesting a genetically-based trade-off between somatic growth and reproductive investment. We further show that pituitary hormones were involved in mediating this asymmetric response to size-dependent selection. Counter-intuitively, at 40 dph the faster-growing line did not show the higher expression levels of growth hormone (GH) but, as expected, show slightly lower expression levels of the both gonadotropin hormones (LH, FSH).

3. Our results provide empirical support for the existence of a genetically-based growthmaturation trade-off in vertebrates. They also suggest the collapse risk might greatly increase when exploitation is size-dependant compared with size-independant exploitation. From this collapse risk increase, ecosystem stability might be threatened. Additionally, we demonstrate that whether and how vertebrate populations adapt to size-selective pressure may depend on the direction of selection, i.e., genetic constraints could prevents adaptation.

Key words (8) : size-selection experiment, medaka (*Oryzias latipes*), fitness-related traits, sexual maturity, growth, growth hormone (GH), gonadotropins (FSH, LH)

#### Introduction

Human often apply a selective overharvest on wild populations that could increase collapse risk (Hutchings 2000; Neubauer et al. 2013; Jerozolimski and Peres 2003; Cardillo et al. 2005) of the target populations and induce trophic cascades along food chains (Estes et al. 2011). However, the underlying mechanisms of population collapse and harvest-induced trophic cascades remain unclear. Particularly well documented in the case of fisheries, overexploitation generates a decrease in density which may be accompanied by rapid phenotypic changes in size and age at maturity (e.g. Olsen et al. 2004; for review see Fenberg and Roy 2007; Hutchings and Fraser 2007). These phenotypic changes could be the results of the size selective nature of the harvesting: by exacerbating the mortality of the largest and oldest individuals a more important part of the smallest individuals contributes to the reproduction (Law 2000; Allendorf and Hard 2009).

Phenotypic changes could increase the collapse risk of an exploited populations by increasing the natural extrinsic mortality (Fenberg and Roy 2007) and by reducing the intrinsic population growth (Hutchings and Reynolds 2004). The study of the Canadian cod populations of the Southern Gulf of St. Lawrence illustrates how the high size selective mortality increases collapse risk of the population (Swain 2011). The author has shown that harvest-induced size selective mortality have lead to a decrease in the population density and in the average individual body size and subsequently to an increase of the natural mortality of large and old individuals, a natural extrinsic mortality risk. This elevated mortality risk could be due to the initial harvest-induced body-downsizing of the cod population. In parallel with an increase in natural extrinsic mortality risk, size-dependent selection could also impact fitness-related traits (Blueweiss et al. 1978; Peters 1983; Roff 1992) such as growth rate, maturity schedule, fecundity. Therefore, average body size changes could reduce population growth and be responsible for an increase in collapse risk. Both an adaptive response or a change in the breeders body size might threat the exploited populations. It is this second mechanism that we explored through a size-selection experiment.

Relative to *in situ* monitoring, size-selection experiments could provide further benefits to understand in more details the potential consequences of the selective harvesting on fitness and life history trajectories of an exploited population (Fuller, Baer, and Travis 2005; Conover

and Baumann 2009; Diaz Pauli and Heino 2014). Firstly, by controlling the nature and the strength of selection, drivers of phenotypic changes could be assessed. Secondly, size selection experiments allow us to measure a large number of traits, and consequently allow to determine which traits respond directly or indirectly (i.e. correlated traits) to selection, as well as the magnitude and direction of the responses to selection. And finally, by controlling environmental conditions, the common garden approach permits to disentangle plastic and genetic change in the studied life history traits. Some studies have already reported significant change in fitness-related traits associated with experimental size-selection pressure (e.g. Conover and Munch 2002; Walsh et al. 2006; Uusi-Heikkilä et al. 2015; van Wijk et al. 2013). Here we extend their approach (1) by studying the fitness of the size-selected lines and 2) by investigating in parallel the endocrine regulation involved in the control of both somatic growth and sexual maturation.

We applied a bi-directional size selection on medaka fish (*Oryzias latipes*) to assess the potential for genetic correlations to cause direct and indirect changes in phenotypic traits and to better understand the underlying mechanisms. We chose to use medaka as model because this small freshwater fish is easy to reproduce in laboratory, shows a small generation time and shares common characteristics (i.e. external fertilization, small egg size...) with small exploited marine fish, such as Atlantic silverside (Walsh et al. 2006). Three lines were produced according to a bi-directional size selection harvesting protocol over 6 generations to produce a control line (random harvested, the C line), a high line (small-size harvested, the H line) and a low line (large-size harvested, the L line).

The effect of size selection was measured on a large number of traits which were (1) the selected trait (the standard length at 75 days-post-hatch) and the somatic growth pattern, (2) fitness-related life history traits: sexual maturity probability, adult and progeny survivals, female fecundity, egg size, mean incubation time, hatching rate, size at hatch and fitness estimation but also on (3) the candidate genes expression levels (i.e. growth hormone, follicule-stimulating and luteinizing hormone) to assess endocrine changes. We believe that our results provide important insights into potential effects of size-dependent selection, such as how selection could impact body size and traits correlated with size, in which directions, and how anthropogenic size-selection could affect fitness with important implications for exploited population dynamic but also for ecosystem dynamics.

#### Materials and methods

#### Experimental fish and facility

Medaka is a small freshwater fish from Southeast Asia commonly used in the laboratory as model organism (Kirchmaier et al. 2015) because of its small size (25-35 mm as adult), extreme resistance to manipulations, short generation time (10-12 weeks) and high fecundity. Our start medaka population descended from 100 wild medaka caught in 2011, in Kiyoshu (Toyohashi, Aichi Prefecture, Japan), a wild population that has recently been shown to present a high level of genetic diversity (Spivakov et al. 2014).

Progeny from these initial 100 breeders were stocked in artificial, outdoor ponds at the CEREEP Ecotron Île-de-France (www.foljuif.ens.fr), where the experiment was realized. In 2013, around 100 fish were transferred from outdoor ponds into the aquarium facility under a constant cycle of 14h of light - 10h of darkness, in 3L aquariums (10 to 20 fish/aquarium) connected to a continuous flow-through system ensuring good water quality. Temperature was maintained between 26 and 27.5°C. Fish were fed *ad libitum* with a mixed diet of dried food (Marin start, Le Gouessant Aquaculture, France) delivered 4 times per day using automatic microfeeders (Eheim 3581, Europrix, France), and of living food (*Artemia salina* nauplii and/or *Turbatrix aceti*) 1 time per day, 5 days per week. These light, temperature and food conditions provided optimal growth and maturation conditions to medaka (Kinoshita et al. 2009).

#### Breeding design and size-selective harvesting

The first 2 generations (F-1 and F0) were used to minimize maternal and grand maternal effects, and we thus applied no selection on the breeders that were allowed to mate randomly in each aquarium. From generation F1 onwards, we started size-selective harvesting during 6 generations and we further maintained siblings grouped in the same aquariums. This way, we were able to keep track of individual pedigrees. Siblings were introduced in their aquariums at a constant density of 20 larvae per aquarium. In each generation, at 15 dph, we homogenized density among aquariums. A threshold (X) was defined as the highest density reached by at least 15 families per line. Fish were culled again to have a maximum of X+3 fish per family (X was comprised between 14 and 17).

Similar to Conover and Munch (2002), our size-selective breeding protocol was based one a bi-directional selection on standard body length (see phenotyping protocol section below) of mature individuals resulting in 3 selected lines: a control line (C line) in which fish were randomly size-selected (random harvest), a high-selected line (H line) in which the largest-sized fish were kept as breeders (small-size harvest), and a low-selected line (L line) in which the smallest-sized fish kept as breeders (large-size harvest). We chose not to replicate lines to maximize the number of fish per line and thus minimize genetic drift. We further minimized drift by controlling breeding pairs (see below). In order to mimic the harvesting of wild populations, our selection regime mixed family- (i.e., sibling) and individual-level selection. Indeed, several studies suggest that related fish tend to aggregate in the wild (Selkoe et al. 2006; Ward and Hart 2003), such that harvesting large individuals may lead to not only selectively removing the largest individuals, but also to selectively removing the largest families.

Specifically, at 60 day-post-hatch (dph) we applied selection (C, H or L) on mean sibling sdl (family-level selection; Lush 1947). At that stage, 10 families were retained for the next generation. Families of less than 10 individuals at 60 dph were discarded from the selection procedure to avoid propagating low-survival genes. Then, at 75 dph, 2 mature males and 2 mature females in each selected family were kept as breeders (individual-level selection) corresponding to an average selective rate of 85% per line. The resultant 20 breeding pairs were formed so as to minimize inbreeding, as informed from the pedigree data. By generation F7, mean inbreeding rate was 0.12 (min = 0.08, max = 0.17).

#### Macroscopic phenotyping

The below-described phenotypic measurements started from generation F3. The selected trait, **the standard length** (sdl) at 75 day-post-hatch (dph) was measured from the tip of the snout to the base of the caudal fin. **The age** of all siblings of a family was identical and calculated according the weighed average of hatching dates. At 0 (hatching), 15, 60 and 75 dph each individual in each family was **sexed** as immature, female or male according to secondary sexual characters (Yamamoto 1975), and pictured for subsequent measurement of **s**dl to the nearest 10<sup>-3</sup> mm with ImageJ software (Abràmoff, Magalhães, and Ram 2004). At 75 dph fish were also weighted (mg). All fish manipulations were performed after anesthesia in tricaine methane sulfonate (MS222), except at 0 and 15 dph when just-hatched larvae and juveniles

were manipulated with a Pasteur pipette and pictured in a droplet.

We further randomly sampled fish for endocrine measurements (see molecular phenotyping) at 40 dph (10 to 15 fish per line) in all generations, plus 20 fish per line at 89 dph at the last generation (F7). These fish were phenotypes for external traits as described above.

We also measured the **fecundity** of female breeders as the number of eggs laid during a period roughly corresponding to 88 to 92 dph. Each clutch was pictured and processed with ImageJ software to automatically **count eggs** and also measure **egg size**, expressed as egg diameter hereafter. All clutches from the same female were pooled for incubation. **Mean incubation time** was measured as the time between the weighed average of egg laying dates and the weighed average of hatching dates for larvae collected in between mother's 95 and 100 dph. **Hatching rate** was computed as the probability for an egg to provide a collected larvae. **Survival** was computed as the probability for living fish at phenotyping t to still be alive at phenotyping t+1 for larvae (between 0-15 dph) and for adult (between 60-75 dph).

#### Molecular phenotyping

Pituitary mRNA levels of growth hormone (GH), and β-subunit of gonadotropin hormones (follicle-stimulating hormone β-subunit, FSHβ; luteinizing hormone β-subunit, LHβ) were assessed at 40 dph for 10 to 15 fish per line in all generations and at 89 dph for 20 fish per line in the last generation (F7). Fish were sacrificed and dissected under binocular microscope for pituitary which was immediately immersed in 250  $\mu$ l of Trizol reagent (Ambion) and stored at -20°C for subsequent mRNA measurements using quantitative PCR.

After sample homogenization by agitation (by vortexing during 15 sec), total RNA were extracted according to the manufacturer's indications, suspended in 10  $\mu$ l RNAse-free water, and treated with DNAse I (Dnase I recombinant RNAse-free, Roche Diagnostics). Then reverse transcript into cDNA were produced from 5 $\mu$ l of total RNA using RT Superscript III (RT Superscript III First Strand cDNA Synthesis Kit; Invitrogen, Life Technologies) and random hexamer primers (50 ng; Invitrogen, Life Technologies), at 50°C for 60 min after an initial step of 25°C for 10 min. Medaka specific primer sets for FSH $\beta$  were designed with primer3 software (Rozen and Skaletsky 1999) on two successive exons, or on exon junctions. Gene specific primer sets for GH, FSH $\beta$ , LH $\beta$ , and actin  $\beta$  (ACT $\beta$ ), used as reference gene,

were previously designed (see Supporting Information, Table S1). Efficiency and amplification specificity were checked for each primer set. The sets with the higher efficiency were chosen for the following quantification experiment.

Messengers RNAs were assayed using Light Cycler system (LightCycler® device; Roche Diagnostics) with the LightCycler FastStart Master plus SYBR Green I kit (Roche Diagnostics) as recommended by the manufacturer, from 4  $\mu$ l of diluted 1:10 cDNA samples and the specific primers concentrated at 500 nM (purchase at Eurofins). The PCR conditions were 95°C for 10 min followed by 50 cycles at 95°C for 5 sec, 60°C for 10 sec and 72°C for 5 sec. Relative expression level of mRNA (arbitrary unit, hereafter au) was quantified in duplicate, by comparing threshold cycles values (Ct) to the specific standard curves prepared for each gene from a pool of adult pituitaries. The levels of mRNA were normalized to levels of ACT $\beta$  in each corresponding sample to correct for variations due to extraction performance.

#### Statistical analyses

We used linear and nonlinear mixed effects models to inspect the effect of size selection on :

1. sdl at 75 dph (Table 1, model 1) and somatic growth pattern (Table 1, models 2 and 3a-3c)

2. fitness-related life history traits : the maturity ogive probability (Table 2, models 4 and 5), the survival (Table 2, model 6a and 6b), the fecundity (Table 2, model 7 and Table 3, model 7f), the egg size (Table 2, model 8 and Table 3, model 8f), the mean incubation time (Table 2, model 9 and Table 3 model 9f), the hatching rate (Table 2, model 10 and Table 3, model 10f), larval size at birth (Table 2, model 11 and Table 3, model 11f)

3. fitness (Table 2, model 12), and

4. mRNA levels of candidate genes and the maturity probability at 40 dph (Table 4, model 13-16). Tables provided detailed on model structures and parameter estimates. Our linear models (all except model 2) used standard distributions and link functions (see Tables 1-3).

Our nonlinear model for the normally-distributed sdl-at-age used a logistic function of age (Table 1, model 2):

$$Sdl(t) = \frac{LF}{1 + \exp(g(I-t))}$$
 Eq. 1,

where Sdl(t) = sdl at age t, LF = asymptotic sdl, g = constant growth rate (1/dph), and I = age at the inflexion point of the curve. The model included a linear component (ANOVA) of the form  $\theta = \beta_{line} + \beta_{gen}$ , where  $\theta = nonlinear$  growth parameter (LF, g or I),  $\beta_{line} = line-specific average$ ,  $\beta_{gen} = normally-distributed random generation effect.$ 

Because the growth parameters (LF, g, I) were highly correlated (correlation g- I = -0.962; LF-I = 0.885 and LF-g = -0.768), we complemented this lifetime nonlinear growth model by a simpler modeling of linear growth rates between consecutive phenotyping measurements, giving a juvenile growth rate between 0-15 dph (G<sub>0</sub>, Table 1, model 3a), an early growth rate between 15-60 dph (G<sub>1</sub>, Table 1, model 3b) and a late growth rate between 60-75 dph (G<sub>2</sub>, Table 1, model 3c). These two approaches gave similar results.

Fitness of each breeding pair was estimated from the eigen value  $\lambda$  of the Leslie matrix (M) as follow :

$$\boldsymbol{M} = \begin{bmatrix} 0 & 0 & f * s_{egg} \\ s_1 & 0 & 0 \\ 0 & s_2 & 0 \end{bmatrix} \text{ Eq. 2,}$$

where *f* is the female fecundity,  $s_{egg}$  is the hatching rate,  $s_1$  is the survival rate of the progeny from 0 to 15 dph and  $s_2$  is the survival rate of the progeny from 15 to 75 dph. We tested for fitness differences among lines using an ANOVA (Table 2, model 12). To use standard distribution and link function to model our fitness estimation, we removed families with fitness value to 0 after having checked that the dispersion of 0 value were homogeneous between line ( $\chi^2_{d.f.=2} = 0.92$ , p-value=0.91).

Probabilistic maturation reaction norm (PMRN) midpoint for each line were estimated from the maturity ogive probability to characterize genetic change in maturation schedules in relation to age and size combination (Heino, Dieckmann, and Godø 2002; Barot et al. 2004). The logistic model used as to estimate the maturity ovige was similar to model 4 (Table 2) but was fitted separatly at each age (Barot et al. 2004).

In our models, we systematically included a generation random effect when traits were measured at the family level (models 3a-3c, 6a,6b, 7, 7f, 9, 9f, 10, 10f, 12, 13-16) or a family, nested in generation random effect (models 1, 2, 4, 5, 8, 8f, 11, 11f) when traits were measured at the individual level. For all models, fixed effects structure included systematically the line effect (Table 2). To see if the size selection had generate line-specific change into the reproductive effort we controlled for the female body size the measured reproductive traits (i.e. fecundity, egg size, mean incubation time, hatching probability, larvae size at birth, see Table 3; Uusi-Heikkilä et al. 2015). Some additional fixed effects were tested (see below) kept or discarded in the models using an AIC-based selection procedure (Burnham and Anderson 2002). Additional fixed effects tested on the selected trait were sex and its interaction with line (Table 1, model 1). Additional fixed effects tested on maturity ogive probabilities were the interaction between sdl or age and the line (see Table 2, respectively model 4 and 5) and additional fixed effects tested on the transcripts levels of candidate genes were sdl, its interaction with line, and sex (see Table 4).

For all models we performed Tukey post-hoc pairwise comparisons to find which levels of relevant qualitative explanatory variables differed from each others. Homoscedasticity and normal distribution of residuals were checked for each linear model by visual inspection. All statistical analyses were performed in R 3.1.3 software (R Core Team 2014) with nlme (non linear model; Pinheiro et al. 2016), lme4 (generalized and linear model; Bates et al. 2015), lsmeans (post-hoc tests; Lenth 2015).

#### Results

Our results reveal a significant but asymmetric response to size-dependent selection. Compared to the C line, the H line evolved toward larger size at age through a faster somatic growth, and also evolved a delayed sexual maturation at larger size. These change were not accompanied by any change in the GH expression level but by lower FSH and LH expression levels. The L line did not evolve toward smaller size at age but presented a slight younger age at maturation compared to the C line. Compared to the C line, the L line had also a lower fitness due to a lower female fecundity and a slight lower survival probability from 0 to 15 dph. These change were accompanied by a higher expression level of GH, FSH and LH. Results are detailed below (estimated effect are presented as mean  $\pm$  SE for F3 to F7).

#### (1) Response of the selected trait and somatic growth

Trends in average sdl of mature fish at 75 dph show that medaka sdl decreased in all the selected lines, and that the H line responded to selection but not the L line (Fig. 1). There was statistically significant difference in the sdl at 75 dph between the H and other lines but not between the C and the L line (Table 1, model 1). Specifically, average sdl at 75 dph in the C, H and L lines were as follows:  $19.15 \pm 0.16$  mm,  $20.27 \pm 0.16$  mm, and  $19.09 \pm 0.16$  mm, respectively. We also found that sdl at 75 dph was significantly less in immature fish (17.39  $\pm$  0.11 mm) than in male ( $20.29 \pm 0.10$  mm) or female ( $20.83 \pm 0.10$  mm) medaka (Table 1, model 1 and see Supporting Information, Fig. S2 for sdl response comparison between male and female). In the last generation (F7), the H line evolved an sdl at 75 dph that was 9.7 % larger than in the C and L lines (26.6 % larger in body mass, see Supporting Information, Fig. S1).

Somatic growth parameters from Eq. 1 also responded to selection in the H but not in the L line (Fig. 2; Table 1, model 2). Both asymptotic sdl (*LF* parameter in Eq. 1) and growth rate (*g* parameter in Eq. 1) were significantly larger in the H than in both the L or C lines (H line:  $LF = 22.99 \pm 0.57$  mm and  $g = 0.053 \pm 0.004$  dph <sup>-1</sup>, L line:  $LF = 21.98 \pm 0.57$  mm and  $g = 0.052 \pm 0.004$  dph <sup>-1</sup>, C line:  $LF = 21.97 \pm 0.57$  mm and  $g = 0.051 \pm 0.004$  dph <sup>-1</sup>). The age at inflexion point (*I*) was not significantly different between the three selected lines, but increased according to the following sequence, L, C and H line (L line: I = 30.16 ± 2.97 dph, C line:  $30.78 \pm 2.97$  dph, H line:  $31.34 \pm 2.97$  dph).

The linear growth rate around inflection point (G<sub>1</sub>) increased significantly faster in the H line than in the others ( $0.25 \pm 0.01$  in H,  $0.23 \pm 0.01$  in L and  $0.22 \pm 0.01$  mm dph <sup>-1</sup> in C; Table 1, model 3b). However, juvenile growth rate (G<sub>0</sub>) and late growth rate (G<sub>2</sub>) were not significantly different between the three lines (Table 1, model 3a and 3c).

#### (2) Response of fitness-related traits and fitness estimation from Leslie matrix

#### **Maturation schedule**

Maturity probability at a given sdl was significantly lower in the H line than in the L line and the C line which did not significantly differ between them (Fig. 3; Table 2, model 4). For example, an average-sized fish  $(18.94 \pm 0.03 \text{ mm})$  showed a significantly lower probability to be mature in the H line (probability to be mature was  $0.76 \pm 0.02$ ) than in the C and the L line (probability to be mature was respectively  $0.91 \pm 0.01$  in C and  $0.93 \pm 0.01$  in L). In addition we found a significant interaction between sdl and line, indicating that maturation probability increased less fast with sdl in the H than in the two other lines (slope of the sdl effect was significantly shallower in the H line; see Fig. 3; Table 2, model 4). Maturity probability at a given age was significantly lower in the H line than in the L line (the C line did not significantly differ from the other lines, Fig. 3; Table 2, model 5). Additionally, the slope of the age effect on maturation probability was significantly shallower in the H than in the H than in the H than in the other lines (Fig. 3; Table 2, model 5). The probability is allower in the H than in the H than in the other lines (Fig. 3; Table 2, model 5). The probabilities at sdl and at age showed that the H line exhibited delayed age and higher size at maturity compared to the other lines (see Supporting Information, Fig. S3).

To better interpret the hormonal expression pattern (see below) we estimated the maturity probability at a given sdl at 40 dph (from the dissected fish). It gave consistent results with pattern found above (Table 4, model 13).

#### Female fecundity, egg size, mean incubation time, hatching probability, sdl at birth

Female fecundity was significantly lower in the L line than in other lines (Table 2, model 7). Average egg number laid per day was:  $7.64 \pm 1.13$  eggs,  $8.75 \pm 1.26$  eggs and  $5.07 \pm 0.75$  eggs, respectively in the C, H and L lines. The difference in female fecundity between lines disappeared when controlling for female body size which is significantly positively correlated

with fecundity (see Supporting Information, Fig. S4 and Table 3, model 7f). Egg size was not significantly different between the three selected lines (Table 2, model 8). Mean incubation time of eggs was not significantly different between the three selected lines (Table 2, model 9). Hatching probability was not significantly different between the three selected lines (Table 2, model 10). These line tendencies completely disappear when controlling for female body size (Table 2, model 9f and 10f). In addition larval size at hatch was significantly lower in both the L and H lines compared with the C line (see Supporting Information, Fig. S4 and Table 2, model 11) even when controlling for the effect of female body size (Table 3, model 11f). Average sdl at hatch was as follows:  $3.89 \pm 0.02$  mm,  $3.78 \pm 0.02$  mm and  $3.82 \pm 0.02$  mm, in the C, H and L lines, respectively.

#### Survival probability

0 to 15 dph survival probability was significantly lower in the L line than in the H line whereas the C line was not significantly different from the other lines (see Supporting Information, Fig. S4 and Table 2 model 6a). Specifically, the probability to survive for a larvae in the C, H and L was as follows:  $0.93 \pm 0.01$ ,  $0.95 \pm 0.01$ , and  $0.91 \pm 0.02$ , respectively. Adult probability to survive was not significantly different between the lines (Table 2, model 6b).

#### **Fitness estimation**

Estimated fitness from the Leslie matrix was significantly lower in the L line than in the other lines (Fig. 4; Table 2, model 12). Specifically, the fitness was as follows:  $1.58 \pm 0.08$ ,  $1.60 \pm 0.08$ , and  $1.45 \pm 0.06$ , in the C, H and L respectively.

#### (3) mRNA levels of candidate genes

The transcript levels of the key endocrine hormone involved in the control of the growth and the sexual maturation were measured in young fish (42.93  $\pm$  0.16 dph) in each selected lines (Fig. 5). Levels of GH transcripts were significantly higher in the L line than in the two other lines (Fig. 5; Table 4, model 14). Specifically, for an average-sized fish (14.80  $\pm$  0.12 mm), mRNA levels of GH was 0.76  $\pm$  0.28 au in the L line, 0.48  $\pm$  0.22 au in the C line and 0.60  $\pm$  0.22 au in the H line. Transcript levels of both gonadotropins subunits FSH $\beta$  and Lh $\beta$ , were significantly different between the H and the L lines with the L line showing higher level for an average-sized fish (FSH $\beta$ : 0.041  $\pm$  0.015 and LH $\beta$  0.066  $\pm$  0.011 au) than in the H line

(FSH $\beta$ : 0.025 ± 0.009 au and LH $\beta$  0.043 ± 0.007). In contrast, the C line was not significantly different from the two other lines (FSH $\beta$ : 0.030 ± 0.011 au and LH $\beta$  0.054 ± 0.009; see Fig. 5, Table 4, model 15 and 16). Fish sdl was positively correlated to mRNA levels of FSH $\beta$  and LH $\beta$  but not those GH. We detected a fish sex effect only on the gene expression of FSH $\beta$  (Table 4, model 15). Specifically, immature medaka at 40 dph showed lower expression level (0.019 ± 0.007 au) than mature fish (male: 0.038 ± 0.015 au; female 0.043 ± 0.016 au).

Additional measurements on adult fish at 90 dph (in F7) revealed same pattern of GH expression but at a significantly lower level than for young fish for all lines (see Supporting Information, Fig. S5). The slope of the relationship between mRNA level and age suggests that the expression level in the H line undergoes a larger decrease than in the other lines (see Supporting Information, Fig S5). gonadotropin hormones in adult fish also presented the same pattern than in young fish but at a significant higher level in all the selected lines (Fig. S5). Even if the patterns were the same for adult than for young, statistical significance was changed: for mRNA levels of FSH $\beta$ , all the lines had stricly different levels, for mRNA levels of LH $\beta$ , only the L line reach significantly higher levels than the other lines (see Fig. S5).

#### Discussion

#### (1) Response of the selected trait and somatic growth

The phenotypic change of the selected trait observed between our positive and negative size selective treatment (9.7% in sdl and 26.6% in mass after 6 generations of selection) was in the range of those found in other size selective experiments performed on fish at equivalent harvest rate (75-90%). For example, Conover and Munch (2002) report a difference of 36% in mass of Atlantic silversides (*Menidia menidia*) after 4 generations, (van Wijk et al. 2013) obtained a difference of 14% in body length of guppies (*Poecilia reticulata*) in only 3 generations, and (Uusi-Heikkilä et al. 2015) related 7% change between positive and negative size selective treatment on asymptotic length of zebrafish (*Danio rerio*) after 5 generations.

In exploited fish populations, the body length downsizing recorded were often higher than those find in artificial size selection experiments, studies reported a decrease of 20% over 40 years of harvesting on Atlantic groundfish (Shackell et al. 2010) and 25% over 10 years on Atlantic Cod (*Gadus morhua*; Swain, Sinclair, and Hanson 2007). The medaka body size at 75 dph evolution could be directly associated with changes in somatic growth pattern, a larger body size at age was reached in the H line (i.e. the small-size harvested). This result is in agreement with life-history theory which predits that size selective mortality could generate somatic growth evolution, towards slower growth (selective mortality of large individuals) or faster growth (selective mortality of small individuals). Some experimental (Edley and Law 1988; Conover and Munch 2002; Biro and Post 2008) and empirical studies (Ricker 1981; Edeline et al. 2007) observed also this response to size selection. This first result supports the hypothesis that size-selective harvesting could induce an evolutionary body downsizing in numerous fisheries (Diaz Pauli and Heino 2014).

#### (2) Response of the fitness-correlated traits and fitness estimation

The probabilistic maturation reaction norm describing the 50 % maturation probability showed that the H line had delayed age and size at maturity. This result is in line with evolutionary theory, which predicts that faster somatic growth is achieved at the cost of delayed maturity due to trade-offs between growth and reproduction (Stearns 1980; Roff 1992). Our results further suggest that this reproductive cost of somatic growth and reproduction is mediated by a negative genetic correlation between reproductive investment and somatic growth. Life history

theory also predicts that mortality increase of large and mature fish could favor fish which reproduce not only earlier but also allocate more energy to reproduction once they reach maturation (Stearns 1989; Heino and Godø 2002; Festa-Bianchet 2003). In contrast with this prediction, we did not find any response to selection of size-specific fecundity in medaka. This result corroborates precedent results from experiment (Walsh et al. 2006) and natural studies (Rijnsdorp, Grift, and Kraak 2005), in which size-specific fecundity did not respond to size-dependent selection.

We found that size-specific larval size at birth evolved toward a decrease in the H line, despite that size-specific fecundity and size-specific egg size did not. As the egg size could not be involved to explain this pattern, we propose that this decrease in larval size at birth should be related to a slight decrease in the incubation time (see Table 2). This smaller size at birth did not affect survival of the larvae and the fitness of the small-size harvested line (the H line). In the L line, the size-specific larval size at birth also evolved toward a decrease, but with no correlated change in incubation time. We propose to explain this result by a decrease in egg quality (for instance nutrient levels; see Brooks et al. 1997) in the L line compared to the two other lines. This hypothesis is supported by the lower larval probability to survive found in the L line. The fitness estimation from the Leslie matrix revealed a lower fitness in the L line than in the two other lines, reflecting a lower female fecundity and a lower larval survival. This decrease in fitness in the L line reveals that even if the selected trait does not significantly respond to selection, smaller breeder sizes entail decreased reproductive efficiency. Regardless to the underlying mechanism (i.e. evolutionary shift or not), the decrease in the intrinsic capacity of the exploited population to maintain a constant population growth rate should largely increase population collapse risk. In addition these results underline the importance of body size in shaping life history traits.

#### (3) mRNA levels of candidate genes

Somatic growth and maturation are controlled by pituitary hormones in vertebrates (Reinecke et al. 2005; De-Santis and Jerry 2007; Zohar et al. 2010), and we thus investigated the expression level of some key endocrine regulators in the selected lines. We here focused on mRNA expression levels of GH, FSH (subunit  $\beta$ ) and LH (subunit  $\beta$ ).

In teleosts, GH is a pleiotropic pituitary hormone related to somatic growth rate

(Reinecke et al. 2005; Canosa, Chang, and Peter 2007) and puberty (Le Gac et al. 1993). Its action can be direct by stimulating cells growth in skeletal muscles expressing its receptor or indirect by stimulating insulin-like growth factors (IGFs) expression and secretion in liver (Rousseau and Dufour 2007). In our experiment, the L line had higher GH expression levels but the same growth and maturation pattern than the C line. This result is in contradiction with the literature showing that higher GH expression is often associated with faster somatic growth or earlier maturation.

We can propose some hypothetical explanations for this unexpected result, under the assumption of mRNA GH levels reflects levels of circulating GH hormone. First, GH might have a negative dose-dependent effect on the somatic growth, i.e., low and high expression levels compared to an intermediate expression level could lead to a lower somatic growth rate, as observed. This type of correlation between circulating GH level and growth was measured in tilapia (*Tilapia mossambica;* Clarke, Farmer, and Hartwell 1977).

Second, some studies reported that high circulating GH levels could be related to low somatic growth in fish such as rainbow trout and sea bream (Perez-Sanchez and Le Bail 1999). In this case the pattern recorded in mRNA level of GH for medaka was in accordance with the pattern of growth observed in our experiment.

Third, a lower negative feedback of IGF on GH release (Rousseau and Dufour 2004) in the L line might explain the shift observed in the L line compared to the others. Four, we could suggest that the pattern observed in GH expression might be related to other physiological change, such as the level of stress (Pickering et al. 1991; Farbridge and Leatherland 1992; Bonga 1997). An acute stress in fish, maybe at time of dissection, due to the manipulation or to an osmotic chock might increase the mRNA level of GH, as found for goldfish (Bonga 1997). It is plausible that the L line could have evolved a higher sensitivity to such stress.

Finally, we could also consider that the growth pattern observed was related to unmeasured actors of the growth hormone signaling pathway, such as the circulating levels of IGFs produced in the liver in response to GH, or the expression levels of GH receptors in target tissues.

LH and FSH are known to stimulate steroidogenesis and gametogenesis and are involved in the onset of the puberty and sexual maturation (Charlton 2008; Zohar et al. 2010).

FSH and LH expression levels in medaka at 40 dph were significantly lower in the H line than in the L line and the C line had intermediate FSH and LH expression levels. At 75 dph, the pattern remained the same and amplified such that expression levels were significantly different among all the three lines for FSH (but not for LH which was too variable to detect any significant difference). These results match with the effect of selection on maturation schedules (earlier in the L line and later in the H line), indicating that LH and FSH genes are straightforwardly involved in mediating the response to size-dependent selection in medaka.

#### (4) Non symmetric response and common trend

The response to the bi-directional selection of the selected trait was clearly non symmetric since the L line did not respond (see Fig. 1). Asymmetric response to selection if often reported in selection experiment and may result from (Falconer 1975): (a) differential inbreeding among the selected lines, (b) asymmetry of the selection differential, (c) genetic drift inducing random trait dynamics, (d) scalar asymmetry of the trait, (e) asymmetry (allelic variability larger in one direction than the other). We will now discuss all of these potential sources of asymmetric response to selection.

(a) fish unavoidably become more related during the experiment. However inbreeding has been controlled (see Materials and Methods) and the lines showed similar inbreeding rates (in F7:  $0.14 \pm 0.02$  in H and  $0.10 \pm 0.02$  in L), and that were relatively low for medaka (Kirchmaier et al. 2015). We thus reject inbreeding a possible cause for asymmetric response to selection in our experiment.

(b) In our experiment the selection differential (difference between the mean of breeder and the mean of mature fish) was relatively equivalent between the two direction of selection (average selection differential:  $7.6 \pm 0.8$  mm in H and  $-6.4 \pm 1.1$  mm in L) whereas the C line was a slightly positively selected ( $0.73 \pm 1.1$  mm in C). Most importantly, the selection differential in the L line was not zero, and it thus can not explain an absence of response to selection. Hence, we reject asymmetric selection differentials as a possible cause for asymmetric response to selection in our experiment.

(c) Random genetic drift is known to occur specifically in population with a small effective size (see a good example of the effect of random drift as a function of population sizes; Rich,

Bell, and Wilson 1979). In our experiment, effective population size was 40 (20 pairs of breeders) which is theoretically high enough to avoid large effects of genetic drift. Most important, response dynamics (Fig. 1) suggest no strong effect of drift since the H line consistently remained larger than the C line all along the course of the experiment, while the L line consistently remained close to the C line. Therefore, we conclude that genetic drift did not significantly influence our results.

(d) Scalar asymmetry occurs when variance is higher for high trait values due to an asymmetry in trait distribution. This scale asymmetry could come from the chosen scale used to select the trait. Consequently it affects the selection differential and the response to selection. In our study the average variance of the selected trait was similar between the lines and could not be considered as the agent of asymmetry (average variance of sdl at 75 dph: 3.44 mm<sup>2</sup> in H, 3.69 mm<sup>2</sup> in L and 4.38 mm<sup>2</sup> in C).

(e) Our results show a decreased fitness in the L line compared to the two other lines, suggesting natural selection against a small body size acting through reductions of both fecundity and larval survival. These lower fitness components had no demographic consequence on the L line since we controlled larval densities at 0 and 15 dph. In contrast, higher larval mortality in the L line could have selected against slow growth and thus counteracted the effect of artificial selection. However, larval mortality was only 4% higher in the L compared with the H line (2% lower than in the C line), a difference that does not compared with the 80% removal applied by artificial selection. Hence, we conclude that the effect of natural selection was too weak to explain the asymmetric response to selection that we observed.

(f) Finally, genetic asymmetry occurs when the distribution of allelelic frequencies is skewed, such that selection in one direction will have more variability to act on than in the other direction. We consider that skewed allelic distributions is the most likely mechanism that can explain asymmetric response to selection in our experiment. In medaka, we can suppose that past directional selection against a large body size has exhausted genetic variance for a small body size. Accordingly, in the wild medaka die after reproduction at age 1, possibly because of food shortage and competitive exclusion from their juveniles (Edeline et al 2016). Such a selection regime for semelparity probably generates a strong directional selection for early reproduction at a small size (r selection).

Besides the line-specific response to selection we have discussed so far we also found a line-independent trait variability among generations and further showed a global, lineindependent trend towards smaller size at age (see Fig. 1). The fact that these effects were lineindependent suggests that some environmental variations that were random (generation to generation effects) and predictable (the trend). We can hardly explain random environmental variation since densities, water quality and temperature, as well as food were standardised. We suggest that the trend observed results from a common response to the laboratory environment, possibly to elevated temperature, high food and long lightime that are all factors that favour energy allocation to immediate reproduction (Kinoshita et al 2009).

#### (5) Population dynamics consequences

This long term size selection experiment allows us to propose some reflections about the potential negative effects of size selective harvesting on population and ecosystem dynamics. First, we have shown that size-selective harvest might induce an evolutionary response as previously reported by several studies, especially in the case of fisheries. Evolutionary response of size-at-age was correlated with size-dependent change in fecundity and the evolution of age and size at maturity, indicating that size-dependent harvest may have ramification to fitness-related traits and populations dynamics. Therefore, the evolutionary response to harvesting should be taken into account when managing exploited population.

Second, we have shown that the fitness of a large-size harvested population might decrease. The size selective harvest reduces the size of the breeder in addition to some potential evolutionary phenotypic response and could greatly diminish the average fitness of the exploited population. Consequently the collapse risk might greatly increase when exploitation is size-dependent compared with size-independent exploitation.

Third, the lack of evolutionary response recorded in the L line suggests that some exploited populations might not be able to adapt in response to harvesting. In such a non-evolving population, fitness decrease linked to exploitation is permanent and may put the population at risk of extinction. Such a lack of evolvability depends on the trait genetic architecture that is present in the considered species, and is further to be expected when we suspect the population to have experienced a long history of directional natural selection that would have exhausted genetic variability in the direction of selection (i.e., skewed allelic

frequencies). This result calls for a cautious exploitation strategy and suggests that evaluating genetic diversity of functional genetic markers might be a valuable way to asses stock evolvability. Our present study provides routes to designing such molecular tools based on candidate genes known to be involved in the regulation of somatic growth and reproduction.



**Figure 1:** Trends in (A) mean ( $\pm$  SE) standard length (mm) and in (B) mean ( $\pm$  SE) standard length deviation from the control line across several generations of size selection of mature fish at 75 days post-hatch. Grey line with dot points is the trend for the Control line (C line), red line with triangle points is the trend for the High line (H line) and blue line with reversed triangle points is the Low line (L line). (\*) indicates that in F2 mean and standard errors are provided only for breeder's family (see Material and Methods).



**Figure 2:** Standard length growth estimated by a 3-parameter logistic growth model (see Table 1, model 2). Solid grey line is the growth trajectory for the C line, dashed red line is for the H line and dot blue line is for the L line. Points and error bars represented family means and standard errors, grey dot are for the C line, red triangles are for the H line and reversed triangles are for the L line.



**Figure 3:** Maturity probability as a function : (A) of standard length or (B) age. Solid grey line is the maturity probability for the C line, dashed red line and dot blue line are respectively the H line and the L line (see Table 2, model 4 and 5). Points represent individuals, which are whether immature (maturity probability = 0) or mature (maturity probability = 1), for better distinction between lines we put artificially the points below 0 for immature or under 1 for mature fish. Grey dot are the fish in the C line, red triangle are for the H line and blue reversed triangles are the L line.



**Figure 4:** Fitness ( $\lambda$  parameter) computed for each breeding pair from their Leslie matrix (see Table 2, model 12; and Material and Methods for details). The grey box is the fitness distribution of the C line, the red is the H line and the blue is the L line. The black line in the box represent the median, the bottom and top limits of each box are the limits of the first and the third quartiles, respectively.



**Figure 5:** Transcript levels (arbitrary units) for GH (left), FSH $\beta$  (center) and LH $\beta$  (right) standardized by actin  $\beta$  levels as a function of sdl of 40 dph-dissected fish (see Table 5, models 14 to 16). Lines represent model predictions and dots actual datapoints. Grey line and dot points are for the C line, red line and triangle points are for the H line, and blue line and blue inverted triangle points are for the L line.

Table 1: Summary of statistical analyses on the selected trait and somatic growth. « Gen » is generation random effect (from F3 to F7), « Fam:Gen » is a family nested in generation random effects. Fixed effect estimates were estimated against the intercept reference levels that represents mean response in the immature in the C line (model 1) or mean response in the C line only (other models). Fixed effect estimates are provided on the link scale.  $\Delta$ H and  $\Delta$ L are the coefficient values (difference in the means) respectively for the H line and the L line,  $\Delta$ sexF and  $\Delta$ sexM for female and male. (#) indicates overdispersed models, (\*) indicates standardized variables (zero mean and unity standard deviation). group number in Post hoc tests indicates which levels of a categorical variable differ significantly from the other (from pairwise comparisons). The significance of fixed effect was test with their associated F-value for normal and non-normal models, or Chisq-value for normal mixed models (linear or generalized).

	D			D J		F	Post hoc test	Fixed effect test	
Model	(Trait)	Distribution	Link	effect	Fixed effect	estimates		F value	p-value
	Sdl at 75dph n=3456				Intercept (mm)	17.0356 (0.1738)	1; I		
1		Normal	Id.		$\Delta H$	1.1154 (0.2257)	2	2474	<0.0001
				Fam:Gen	$\Delta L$	-0.0620 (0.2248)	1	34.74	<0.0001
					ΔsexF	3.4484 (0.0882)	II	1574.46 <b>&lt;0.0</b>	~0.0001
					ΔsexM	2.9068 (0.0862)	III		<0.0001
					LF (mm)	21.9629 (0.5746)	1	1461.75	<0.0001
	0 1	Normal	Logist.	-	$\Delta H$	1.0381 (0.2772)	2	9.42	~0 0001
					$\Delta L$	0.0039 (0.2758)	1		<0.0001
	Growth curve				I (dph)	30.7771 (2.9744)	1	107.13	<0.0001
2	parameters n=16133			Fam:Gen	$\Delta H$	0.5621 (0.6774)	1	1.56	0.2007
					ΔL	-0.6199 (0.6864)	1		0.2097
					$g(dph^{-1})$	0.0508 (0.0038)	1	178.26	<0.0001
					$\Delta H$	0.0023 (0.0009)	2	2 20	0.0270
					ΔL	0.0016 (0.0009)	1,2	5.50	0.0370
	Linear growth 0-15dph (G0) n=249	wth G0) Normal	Id.	Gen	Intercept (mm.dph <sup>-1</sup> )	0.2252 (0.0178)	1	159.9	<0.0001
3a					$\Delta H$	-0.0002 (0.0072)	1	0.01	0.0074
					$\Delta L$	0.0003 (0.0072)	1	0.01	0.9974
	Linear growth 15-60dph (G1) n=242	Normal	Id.	Gen	Intercept (mm.dph <sup>-1</sup> )	0.2246 (0.0137)	1	270.31	<0.0001
3b					ΔH	0.0298 (0.0059)	2	26 512	-0.0001
					ΔL	0.0092 (0.0059)	1	26.512	<0.0001
	Linear growth	) Normal	Id.	Gen	Intercept (mm.dph <sup>-1</sup> )	0.1554 (0.0220)	1	49.92	<0.0001
3c	60-75dph (G2)				$\Delta H$	-0.0182 (0.0093)	1	4.20	0.1102
	n=242				ΔL	-0.0146 (0.0093)	1	4.30	0.1102

# Table 2: Summary of statistical analyses on fitness-related traits. See legend of Table 1 for

further details.

	Dosponso	Distribution	Link	Random effect	Fixed effect	Fixed offect	Post hoc test	Fixed effect test			
Model	(Trait)					estimates		F value	p-value		
					Intercept	2.1515 ( 0.1158)	1				
	Maturity probability n=7054				$\Delta H$	-0.9502 ( 0.1496)	2	83.48	<0.0001		
4		Binomial	logit	Fam:Con -	ΔL	0.2653 (0.1655)	1		<0.0001		
4			logit	I'alli.Utli	Sdl*	2.1636 (0.0962)	Ι	486.39	<0.0001		
					ΔH	-0.3932 (0.1266)	II	10.24	0 0060		
					ΔL	-0.0499 (0.1387)	Ι		0.0000		
					Intercept	1.3418 (0.1340)	1,2				
	Matanita				$\Delta H$	-0.0287 (0.1875)	1	6.95 0	0 03098		
5	probability	Binomial	logit	Fam:Gen -	ΔL	0.3984 (0.1901)	2		0.05070		
5	n=7054	Diffiniti	юди	i uni.oen	age*	0.5104 (0.0545)	Ι	109.85	<0.0001		
					ΔH	-0.2519 (0.0746)	II	27.86	<0.0001		
					ΔL	0.1019 (0.0793)	Ι		-0.0001		
	Survival	Binomial#			Intercept	2.6528 (0.2492)	1,2				
6a	probability	Binoma⊯ 3.95	logit	Gen	$\Delta H$	0.2794 (0.2406)	1	7.49	0 0236		
	(S1) n=324				ΔL	-0.3519 (0.2284)	2		0.0250		
	Survival	D: . 1//			Intercept	1.9308 (0.1616)	1				
6b	probability (S2) n=318	Binomial# 1.77	logit	Gen	$\Delta H$	0.0100 (0.1377)	1	0.01	0.9971		
					ΔL	0.0023 (0.1372)	1				
					Intercept	2.0332 (0.1485)	1				
7	r=222	Poisson#	log	Gen	ΔH	0.1361 (0.1434)	1	15.48	0.000.4		
		5.25			ΔL	-0.4097 (0.1469)	2		0.0004		
		Normal		Fam:Gen	Intercept (mm)	1.1958 (0.0112)	1	3.09			
8	Egg diameter n=5821		Id		$\Delta H$	0.0086 (0.0155)	1		0.2100		
					ΔL	0.0273 (0.0159)	1		0.2100		
	Mean				Intercept (days)	7.8143 (0.1379)	1				
9	incubation time n=267	ne Normal	Id	Gen	ΔH	-0.0404 (0.1281)	1	6.56	0.0255		
					ΔL	0.2551 (0.1263)	1		0.0377		
	Hatching				Intercept	0.4990 (0.2732)	1	6.71			
10	probability n=222	Binomial# 10.39	logit	Gen	ΔH	-0.5132 (0.2413)	1				
					ΔL	0.0481 (0.2504)	1		0.0350		
11	Sdl at birth n=4580	Normal			Intercept (mm)	3.8922 (0.0170)	1				
			Id	Fam:Gen	ΔΗ	-0.1089 (0.0240)	2	21.05			
					ΔL	-0.0698 (0.0221)	2		<0.0001		
					Intercept	0.6175 (0.0478)	1				
12	Log fitness	Normal	Id	no	ΔH	0.0101 (0.0302)	1	01.04	-0.0001		
	n=246	n=246	n=246				ΔL	-0.1132 (0.0297)	2	21.34	<0.0001

### Table 3: Summary of statistical analyses on reproductive trait with control for female

Model	Response	Distribution	Link	Random effect	Fixed effect	Fixed effect estimates	Post hoc test	Fixed effect test	
	(Trait)							F value	p-value
	Fecundity n=222	Poisson# 5.23			Intercept	2.0771 (0.1088)	1		
7f			log	Gen	$\Delta H$	-0.2374 (0.1833)	1	2.02	0 2207
					ΔL	-0.1977 (0.1603)	1	2.95	0.2307
					female sdl*	0.3532 (0.1119)		9.96	0.0016
					Intercept (mm)	1.1929 (0.0109)	1		
0f	Egg diameter	Normal	ы	Fam:Gen	$\Delta H$	0.0405 (0.0177)	1	5.22	0.0727
61	n=5821	Norman	Id		$\Delta L$	0.0105 (0.0162)	1		0.0737
					female sdl*	-0.0307 (0.0089)		11.67	0.0006
					Intercept (days)	7.7968 (0.1251)	1		
Qf	Mean	Normal	Id	Gen	$\Delta H$	0.1247 (0.1544)	1	2.02	0 2642
91	time n=267				$\Delta L$	0.1753 (0.1324)	1		0.3043
					female sdl*	-0.1558 (0.0812)		3.68	0.0551
	<b>TT</b> . 11				Intercept	0.4824 (0.2936)	1		
10f	Hatching	Binomial#	logit	Gen	$\Delta H$	-0.3250 (0.2926)	1	1.22	0 5204
101	n=222	10.39	logit	Gen	ΔL	-0.0589 (0.2658)	1	1.25	0.5594
					female sdl*	-0.1855 (0.1665)		1.24	0.2650
					Intercept (mm)	3.8971 (0.0170)	1		
11f	Sdl at birth	Normal	Id	Fam:Gen	$\Delta H$	-0.1433 (0.0278)	2	27.22	~0.0001
	n=4580				ΔL	-0.0524 (0.0246)	2	21.23	~0.0001
					female sdl*	0.0313 (0.0130)		5.78	0.0162

size. See legend of Table 1 for further details.

# Table 4: Summary of statistical analyses on mRNA levels of candidate genes. See legend

of Table 1 for further details.

Model	Desponse			Dandam		Fixed offect	Post hoc test	Fixed effect test	
	(Trait)	Distribution	Link	effect	Fixed effect	estimates		F value	p-value
12		Binomial	logit		Intercept	2.3224 (1.3615)	1		
				Gen -	$\Delta H$	-1.1907 (0.3089)	2	17.50	<0.0001
	Maturity probability n=384				ΔL	0.6775 (0.3940)	1		<0.0001
15					Sdl*	1.5845 (0.3031)	Ι	18.11	<0.0001
					$\Delta H$	0.1745 (0.3677)	Ι	7.92	0 0100
					ΔL	1.5810 (0.5215)	II		0.0190
		N 1	LT	Car	Intercept (arbitrary units)	-1.0123 (0.3049)	1	6.45 <b>0.03</b>	
14	(GH/AC1b) n=384	Normai	Id	Gen	$\Delta H$	0.2339 (0.1792)	1		0.0207
					ΔL	0.4591 (0.1807)	2		0.0390
					Intercept (arbitrary units)	-4.2438 (0.3426)	1,2; I	6.45 <b>0.039</b> 6.52 <b>0.041</b> 14.27 <b>0.001</b>	
	Log (FSH/ACTb) n=388	Normal	Id	Gen	$\Delta H$	-0.1846 (0.1895)	1		0.0412
15					$\Delta L$	0.2912 (0.1874)	2		0.0413
					SexF	0.7754 (0.2114)	П		0.0010
					SexM	0.6651 (0.2395)	П		0.0010
					sdl*	0.3881 (0.0964)		14.29	<0.0001
	Log				Intercept (arbitrary units)	-2.9160 (0.1553)	1,2		
16	(LH/ACTb) n=390	Normal	Id	Gen	$\Delta H$	-0.2287 (0.1380)	1	9.69	0.0070
					ΔL	0.1956 (0.1371)	2		0.0079
					sdl*	0.5054 (0.0628)		64.72	< 0.0001

#### Literature cited

- Abràmoff, Michael D., Paulo J. Magalhães, and Sunanda J. Ram. 2004. "Image Processing with ImageJ." *Biophotonics International* 11 (7): 36–42.
- Allendorf, Fred W., and Jeffrey J. Hard. 2009. "Human-Induced Evolution Caused by Unnatural Selection through Harvest of Wild Animals." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106 (Supplement 1): 9987–9994. doi:10.1016/j.tree.2008.02.008.
- Barot, Sébastien, Mikko Heino, Loretta O'Brien, and Ulf Dieckmann. 2004. "Estimating Reaction Norms for Age and Size at Maturation When Age at First Reproduction Is Unkown." *Evolutionary Ecology Research* 6 (5): 659–678. doi:10.1006/jmsc.2002.1192.
- Bates, Douglas, Martin Mächler, Ben Bolker, and Steve Walker. 2015. "Fitting Linear Mixed-Effects Models Using Ime4." *Journal of Statistical Software* 67 (1). doi:10.18637/jss.v067.i01.
- Biro, P. A., and J. R. Post. 2008. "Rapid Depletion of Genotypes with Fast Growth and Bold Personality Traits from Harvested Fish Populations." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (8): 2919–22. doi:10.1073/pnas.0708159105.
- Blueweiss, L., H. Fox, V. Kudzma, D. Nakashima, R. Peters, and S. Sams. 1978. "Relationships between Body Size and Some Life History Parameters." *Oecologia* 37 (2): 257–72. doi:10.1007/BF00344996.
- Bonga, SE Wendelaar. 1997. "The Stress Response in Fish." *Physiological Reviews* 77 (3): 591–625.
- Brooks, Suzanne, Charles R. Tyler, and John P. Sumpter. 1997. "Egg Quality in Fish: What Makes a Good Egg?" *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 7 (4): 387–416. doi:10.1023/A:1018400130692.
- Burnham, Kenneth P., and David R. Anderson. 2002. Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach. Springer.
- Canosa, Luis Fabián, John P. Chang, and Richard E. Peter. 2007. "Neuroendocrine Control of Growth Hormone in Fish." *General and Comparative Endocrinology* 151 (1): 1–26. doi:10.1016/j.ygcen.2006.12.010.
- Cardillo, Marcel, Georgina M. Mace, Kate E. Jones, Jon Bielby, Olaf RP Bininda-Emonds, Wes Sechrest, C. David L. Orme, and Andy Purvis. 2005. "Multiple Causes of High Extinction Risk in Large Mammal Species." *Science* 309 (5738): 1239–1241. doi:10.1126/science.1116030.
- Charlton, H. 2008. "Hypothalamic Control of Anterior Pituitary Function: A History." *Journal of Neuroendocrinology* 20 (6): 641–646. doi:10.1111/j.1365-2826.2008.01718.x.
- Clarke, W. Craig, Susan Walker Farmer, and K. M. Hartwell. 1977. "Effect of Teleost Pituitary Growth Hormone on Growth of Tilapia Mossambica and on Growth and Seawater
Adaptation of Sockeye Salmon (Oncorhynchus Nerka)." *General and Comparative Endocrinology* 33 (2): 174–178. doi:10.1016/0016-6480(77)90241-6.

- Conover, David O., and Hannes Baumann. 2009. "PERSPECTIVE: The Role of Experiments in Understanding Fishery-Induced Evolution: Experiments to Understand Fishery-Induced Evolution." *Evolutionary Applications* 2 (3): 276–90. doi:10.1111/j.1752-4571.2009.00079.x.
- Conover, David O., and Stephan B. Munch. 2002. "Sustaining Fisheries Yields over Evolutionary Time Scales." *Science* 297 (5578): 94–96. doi:10.1098/rspb.2009.0003.
- De-Santis, Christian, and Dean R. Jerry. 2007. "Candidate Growth Genes in finfish—Where Should We Be Looking?" *Aquaculture* 272 (1): 22–38. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.08.036.
- Diaz Pauli, Beatriz, and Mikko Heino. 2014. "What Can Selection Experiments Teach Us about Fisheries-Induced Evolution?" *Biological Journal of the Linnean Society* 111 (3): 485–503. doi:10.1111/bij.12241.
- Edeline, Eric, Stephanie M. Carlson, Leif C. Stige, Ian J. Winfield, Janice M. Fletcher, J. Ben James, Thrond O. Haugen, L. Asbjørn Vøllestad, and Nils C. Stenseth. 2007. "Trait Changes in a Harvested Population Are Driven by a Dynamic Tug-of-War between Natural and Harvest Selection." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104 (40): 15799–804. doi:10.1073/pnas.0705908104.
- Edeline, Eric, Osamu Terao, and Kiyoshi Naruse. 2016. "Empirical Evidence for Competition-Driven Semelparity in Wild Medaka." *Population Ecology*, 1–13. doi:10.1007/s10144-016-0551-4.
- Edley, Michael T., and Richard Law. 1988. "Evolution of Life Histories and Yields in Experimental Populations of Daphnia Magna." *Biological Journal of the Linnean Society* 34 (4): 309–326. doi:10.1111/j.1095-8312.1988.tb01966.x.
- Estes, James A., John Terborgh, Justin S. Brashares, Mary E. Power, Joel Berger, William J. Bond, Stephen R. Carpenter, Timothy E. Essington, Robert D. Holt, and Jeremy BC Jackson. 2011. "Trophic Downgrading of Planet Earth." *Science* 333 (6040): 301–306. doi:10.1126/science.1205106.
- Falconer, Douglas Scott. 1975. *Introduction to Quantitative Genetics*. New York: Longman Scientific and Technical.
- Farbridge, K. J., and J. F. Leatherland. 1992. "Plasma Growth Hormone Levels in Fed and Fasted Rainbow Trout (Oncorhynchus Mykiss) Are Decreased Following Handling Stress." *Fish Physiology and Biochemistry* 10 (1): 67–73. doi:10.1007/BF00004655.
- Fenberg, Phillip B., and Kaustuv Roy. 2007. "Ecological and Evolutionary Consequences of Size-Selective Harvesting: How Much Do We Know?" *Molecular Ecology* 17 (1): 209–220. doi:10.1111/j.1365-294X.2007.03522.x.

Festa-Bianchet, Marco. 2003. "Exploitative Wildlife Management as a Selective Pressure for

Chapitre 4 : Sélection artificielle sur la taille corporelle | 180

Life-History Evolution of Large Mammals." In: *Animal Behavior and Wildlife Conservation*, 191–207. Washington: Island Press.

- Fuller, Rebecca C., Charles F. Baer, and Joseph Travis. 2005. "How and When Selection Experiments Might Actually Be Useful." *Integrative and Comparative Biology* 45 (3): 391–404. doi:10.1093/icb/45.3.391.
- Heino, Mikko, Ulf Dieckmann, and Olav Rune Godø. 2002. "Measuring Probabilistic Reaction Norms for Age and Size at Maturation." *Evolution* 56 (4): 669–678. doi:10.1111/j.0014-3820.2002.tb01378.x.
- Heino, Mikko, and Olav Rune Godø. 2002. "Fisheries-Induced Selection Pressures in the Context of Sustainable Fisheries." *Bulletin of Marine Science* 70 (2): 639–656.
- Hutchings, Jeffrey A. 2000. "Collapse and Recovery of Marine Fishes." *Nature* 406 (6798): 882–885. doi:10.1038/35022565.
- Hutchings, John B., and Dylan J. Fraser. 2007. "The Nature of Fisheries-and Farming-Induced Evolution." *Molecular Ecology* 17: 294–313. doi:10.1111/j.1365-294X.2007.03485.x.
- Jackson, Jeremy BC, Michael X. Kirby, Wolfgang H. Berger, Karen A. Bjorndal, Louis W. Botsford, Bruce J. Bourque, Roger H. Bradbury, Richard Cooke, Jon Erlandson, and James A. Estes. 2001. "Historical Overfishing and the Recent Collapse of Coastal Ecosystems." *Science* 293 (5530): 629–637. doi:10.1126/science.1059199.
- Jerozolimski, Adriano, and Carlos A. Peres. 2003. "Bringing Home the Biggest Bacon: A Cross-Site Analysis of the Structure of Hunter-Kill Profiles in Neotropical Forests." *Biological Conservation* 111 (3): 415–425. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0006-3207(02)00310-5.
- Kinoshita, Masato, Kenji Murata, Kiyoshi Naruse, and Minoru Tanaka. 2009. Medaka: Biology, Management, and Experimental Protocols. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell.
- Kirchmaier, Stephan, Kiyoshi Naruse, Joachim Wittbrodt, and Felix Loosli. 2015. "The Genomic and Genetic Toolbox of the Teleost Medaka (Oryzias Latipes)." *Genetics* 199 (4): 905–918. doi:10.1534/genetics.114.173849.
- Law, Richard. 2000. "Fishing, Selection, and Phenotypic Evolution." *ICES Journal of Marine Science* 57 (3): 659–668. doi:10.1006/jmsc.2000.0731.
- Le Gac, Florence, Odile Blaise, Alex Fostier, Pierre-Yves Le Bail, Maurice Loir, Brigitte Mourot, and Claudine Weil. 1993. "Growth Hormone (GH) and Reproduction: A Review." *Fish Physiology and Biochemistry* 11 (1): 219–32. doi:10.1007/BF00004569.
- Lenth, Russell V. 2015. *Lsmeans: Least-Squares Means* (version 2.20-23). http://CRAN.R-project.org/package=lsmeans.
- Lush, Jay L. 1947. "Family Merit and Individual Merit as Bases for Selection. Part I." *The American Naturalist* 81 (799): 241–61.

- Neubauer, Philipp, Olaf P. Jensen, Jeffrey A. Hutchings, and Julia K. Baum. 2013. "Resilience and Recovery of Overexploited Marine Populations." *Science* 340 (6130): 347–349. doi:10.1126/science.1230441.
- Olsen, Esben M., Mikko Heino, George R. Lilly, M. Joanne Morgan, John Brattey, Bruno Ernande, and Ulf Dieckmann. 2004. "Maturation Trends Indicative of Rapid Evolution Preceded the Collapse of Northern Cod." *Nature* 428 (6986): 932–935. doi:10.1038/nature02430.
- Perez-Sanchez, Jaume, and Pierre-Yves Le Bail. 1999. "Growth Hormone Axis as Marker of Nutritional Status and Growth Performance in Fish." *Aquaculture* 177 (1): 117–128. doi:http://dx.doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00073-3.
- Peters, Robert Henry. 1983. *The Ecological Implications of Body Size*. Vol. 2. Cambridge: Cambridge University Press.
- Pickering, A. D., T. G. Pottinger, J. P. Sumpter, J. F. Carragher, and P. Y. Le Bail. 1991. "Effects of Acute and Chronic Stress on the Levels of Circulating Growth Hormone in the Rainbow Trout, Oncorhynchus Mykiss." *General and Comparative Endocrinology* 83 (1): 86–93. doi:10.1016/0016-6480(91)90108-I.
- Pinheiro, J., D. Bates, S. DebRoy, and D. Sarkar. 2016. *R Development Core Team. Nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models* (version 3.1-126). http://CRAN.R-project.org/package=nlme.
- R Core Team. 2014. *R: A Language and Environment for Statistical Computing* (version 3.1.0). Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. http://www.R-project.org/.
- Reinecke, Manfred, Björn Thrandur Björnsson, Walton W. Dickhoff, Stephen D. McCormick, Isabel Navarro, Deborah M. Power, and Joaquim Gutiérrez. 2005. "Growth Hormone and Insulin-like Growth Factors in Fish: Where We Are and Where to Go." *5th International Symposium on Fish Endocrynology5th ISFE* 142 (1–2): 20–24. doi:10.1016/j.ygcen.2005.01.016.
- Rich, S. S., A. E. Bell, and S. P. Wilson. 1979. "Genetic Drift in Small Populations of Tribolium." *Evolution*, 579–584.
- Ricker, W. E. 1981. "Changes in the Average Size and Average Age of Pacific Salmon." *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 38 (12): 1636–1656.
- Rijnsdorp, A. D., R. E. Grift, and S. BM Kraak. 2005. "Fisheries-Induced Adaptive Change in Reproductive Investment in North Sea Plaice (Pleuronectes Platessa)?" *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 62 (4): 833–43. doi:10.1139/f05-039.
- Roff, Derek A. 1992. *The Evolution of Life Histories: Theory and Analysis*. New York: Chapman & Hall.
- Rousseau, Karine, and Sylvie Dufour. 2004. "Phylogenetic Evolution of the Neuroendocrine Control of Growth Hormone: Contribution from Teleosts." *Cybium* 28 (3): 181–198.

Chapitre 4 : Sélection artificielle sur la taille corporelle | 182

 2007. "Comparative Aspects of GH and Metabolic Regulation in Lower Vertebrates." *Neuroendocrinology* 86 (3): 165–174.

- Rozen, Steve, and Helen Skaletsky. 1999. "Primer3 on the WWW for General Users and for Biologist Programmers." *Bioinformatics Methods and Protocols*, 365–386.
- Selkoe, Kimberly A., Steven D. Gaines, Jennifer E. Caselle, and Robert R. Warner. 2006. "Current Shifts and Kin Aggregation Explain Genetic Patchiness in Fish Recruits." *Ecology* 87 (12): 3082–94. doi:10.1890/0012-9658(2006)87[3082:CSAKAE]2.0.CO;2.
- Shackell, Nancy L., Kenneth T. Frank, Jonathan AD Fisher, Brian Petrie, and William C. Leggett. 2010. "Decline in Top Predator Body Size and Changing Climate Alter Trophic Structure in an Oceanic Ecosystem." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 277 (1686): 1353–1360. doi:10.1098/rspb.2009.1020.
- Spivakov, Mikhail, Thomas O. Auer, Ravindra Peravali, Ian Dunham, Dirk Dolle, Asao Fujiyama, Atsushi Toyoda, et al. 2014. "Genomic and Phenotypic Characterization of a Wild Medaka Population: Towards the Establishment of an Isogenic Population Genetic Resource in Fish." *G3: Genes* Genees Genetics 4 (3): 433–445. doi:g3.113.008722v1 4/3/433.
- Stearns, S. C. 1989. "Trade-Offs in Life-History Evolution." *Functional Ecology* 3 (3): 259–68. doi:10.2307/2389364.
- Stearns, Stephen C. 1980. "A New View of Life-History Evolution." Oikos, 266-281.
- Swain, Douglas P. 2011. "Life-History Evolution and Elevated Natural Mortality in a Population of Atlantic Cod (Gadus Morhua)." *Evolutionary Applications* 4 (1): 18–29. doi:10.1111/j.1752-4571.2010.00128.x.
- Swain, Douglas P., Alan F. Sinclair, and J. Mark Hanson. 2007. "Evolutionary Response to Size-Selective Mortality in an Exploited Fish Population." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 274 (1613): 1015–1022. doi:10.1098/rspb.2006.0275.
- Uusi-Heikkilä, Silva, Andrew R. Whiteley, Anna Kuparinen, Shuichi Matsumura, Paul A. Venturelli, Christian Wolter, Jon Slate, et al. 2015. "The Evolutionary Legacy of Size-Selective Harvesting Extends from Genes to Populations." *Evolutionary Applications* 8 (6): 597–620. doi:10.1111/eva.12268.
- van Wijk, Serinde J., Martin I. Taylor, Simon Creer, Christine Dreyer, Fernanda M. Rodrigues, Indar W. Ramnarine, Cock van Oosterhout, and Gary R. Carvalho. 2013. "Experimental Harvesting of Fish Populations Drives Genetically Based Shifts in Body Size and Maturation." *Frontiers in Ecology and the Environment* 11 (4): 181–187. doi:10.1890/120229.
- Walsh, Matthew R., Stephan B. Munch, Susumu Chiba, and David O. Conover. 2006. "Maladaptive Changes in Multiple Traits Caused by Fishing: Impediments to Population Recovery." *Ecology Letters* 9 (2): 142–148. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00858.x.

- Ward, Ashley J W, and Paul J B Hart. 2003. "The Effects of Kin and Familiarity on Interactions between Fish." *Fish and Fisheries* 4 (4): 348–58. doi:10.1046/j.1467-2979.2003.00135.x.
- Yamamoto, Tokio. 1975. Medaka (Killifish): Biology and Strains. Keigaku. Vol. 1. 2 vols. Tokyo: Yugaku-sha.
- Zohar, Yonathan, José Antonio Muñoz-Cueto, Abigail Elizur, and Olivier Kah. 2010. "Neuroendocrinology of Reproduction in Teleost Fish." *General and Comparative Endocrinology* 165 (3): 438–455. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.04.017.

## **Supporting Information:**

## Direction specific phenotypic response to size – truncative selection

Clémentine Renneville 1, Alexis Millot 2, Simon Agostini 2, David Carmignac 1, Gersende Maugars 3, Sylvie Dufour 3, Arnaud Le Rouzic 4 and Eric Edeline 1\*

## Running headline: Size selection experiment on fish

1 : Sorbonne Universités, UPMC Univ Paris 06, UMR 7618 Institut d'Ecologie et des Sciences de

l'Environnement - Paris (iEES-Paris), 7 quai St Bernard, F-75252 Paris, France

2 : CEREEP Ecotron Île-de-France, UMS CNRS ENS 3194, 78 rue du Château, 77140 Saint Pierre-lès-Nemours, France

3 : UMR BOREA MNHN, CNRS 7208, UPMC Univ Paris 06, IRD 207, UCBN, 7 rue Cuvier CP 32, F-75231 Paris, France

4 : UMR 9191 CNRS, Univ Paris-Sud, IRD, Evolution, Génomes, Comportement, Ecologie (EGCE),

Avenue de la Terrasse, F-91198 Gif-sur-Yvette, France

#### **Supporting Information contents**

Additional supporting information are provided in the online version of this article:

**Figure S1**: Trends in body mass deviation from the control line across several generations of size selection of mature fish at 75 days post hatch.

**Figure S2**: Trends in standard length and standard length deviation from the control line for male and female at 75 days post hatch.

Figure S3: Probabilistic maturation reaction norms midpoint.

Figure S4: Reproductive traits significantly affected by the size selection.

**Figure S5:** trends between young and adult fish in transcript levels of candidate genes in the F7 generation.

**Table S1:** Gene specific primers designed for amplification and quantification of transcript levels of candidate genes.



**Fig S1: Trends in estimated mass deviation from the C line mean of estimated mass across several generations of size selection at 75 dph**. Grey line is the trend for the C line, red is the trend for the H line and blue is for the L line. The mean and the standard deviation are plotted in each treatment across the generations. The mass was estimated for non breeders only (all fish mass on the fish number for each sex in each family).

Figure S2: Trends in log standard length deviation from the control treatment mean across several generations of size selection for female (solid line) and male (dashed line) at 75 dph. Grey line is the trend for the C line (without size selection), red and blue lines are respectively the H line and the L line. Points and error bars represented family means and standard errors, grey dot are the C line, red triangle are the H line and blue reversed triangle are the L line.



**Figure S3: Probabilistic maturation reaction norms midpoint.** Grey line is the 50% quantiles for the probabilistic maturation reaction norm in the C line, red line is for the H line and blue line is for the L line. Points and error bars represented family means and 95% confidence intervals, grey dot are the C line, red triangle are the H line and blue reversed triangle are the L line.



**Figure S4: Reproductive traits significantly affected by the size selection.** Fecundity (left, see Table 3 model 7f), Mean size of larvae at birth (center, see Table 3 model 11f) as a function of the mother standard length and survival of larvae (right, see Table 2 model 6a) in each line. Solid grey line is the estimated trend (from models) for the C line, dashed red line the H line and dot blue line the L. Points represented data for one female (fecundity and size of larvae at birth), or for one line (survival of larvae) grey dot are the fish in C line, red triangle are the fish in H and blue reversed triangle are the fish in L line. Error bars are the standard errors measurements (SE).



**Figure S5**: transcript levels (arbitrary units) for GH (left), FSH $\beta$  (center) and LH $\beta$  (right) standardized by actin  $\beta$  levels as a function of standard length of young and adult dissected fish from F7 generation. Grey line is the estimated mRNA level and grey dot points are the fish value for the C line, red line is the estimated mRNA level and red triangle points are the fish value for the H line and blue line is the estimated mRNA level and blue for the L line.

**Table S1:** Gene-specific primers (fw for forward and rv for reverse) designed for amplification and quantification of *mRNA* of several medaka pituitary hormones by qRT-PCR using actin- $\beta$ (ACT $\beta$ ) as a reference gene. GH, Growth hormone; FSH $\beta$  and LH $\beta$ , are respectively the follicle-stimulating hormone  $\beta$  subunit and the luteinizing hormone  $\beta$  subunit.

Selected for the quantitative PCR	Target gene	Primer name	5'-3' sequence	Amplicon size (pb)	Tm (°C)	Reference	Code
yes	ΑСΤβ	ACTβ fw	ACCCTGTCCTGCTCACTGAA	91	59.4	Takagi et al 1994	D89627.1
		ACTβ rv	GCAGGGCTGTTGAAAGTCTC		59.4		
yes	GH	GH fw	TCGCTCTTTGTCTGGGAGTT	102	57.3	Provided by F.A. Weltzien	
		GH rv	ACATTCTGATTGGCCCTGAT		55.3		-
no	FSHβ	FSHβ fw1	AAGAGCAGAGGAAGCAACAC	153	57.3	Provided by F.A. Weltzien	-
		FSHβ rv1	GGGATGACAGGAAAAGCTGGA		59.8		
yes	FSHβ	FSHβ fw2	GTCCACACCACCATATGCGA	97	59.4	Designed for this study	-
		FSHβ rv2	AGTCCCCACTGCAGATCTTT		57.3		
no	FSHβ	FSHβ fw3	CAGCTTTTCCTGTCATCCCAAA	121	58.4	Designed for this study	-
		FSHβ rv3	GCTGATGTAGTTGGGATCCTCA		60.3		
no	Lhβ	Lhβ fw1	CCACTGCCTTACCAAGGACC	100	61.4	Provided by F.A. Weltzien	-
		Lhβ rv1	AGGAAGCTCAAATGTCTTGTAG		56.5		
yes	Lhβ	Lhβ fw2	TGCCTTACCAAGGACCCCTTGATG	136	64.4	Ogiwara et al 2013	AB541982
		Lhβ rv2	AGGGTATGTGACTGACGGATCCAC		64.4		

Chapitre 5 : Discussion et perspective

Chapitre 5 : Discussion et perspective | 193

## Résumé du chapitre 5

L'objectif de ce dernier chapitre est de synthétiser les résultats de la thèse et de proposer des perspectives sur la compréhension jointe des mécanismes écologiques et évolutifs liés à la perte de biodiversité. Dans une première partie les résultats sont synthétisés par expérience. Cette partie permet de détailler séparément les conséquences écologiques et les conséquences évolutives de la perte de biodiversité. Pour chaque expérience, des pistes sont proposées pour explorer certaines des hypothèses que les résultats soulèvent. Dans une seconde partie une réflexion est proposée sur les apports potentiels de l'étude des boucles de rétrocontrôle éco-évolutives à la gestion et à la conservation de la biodiversité. L'intérêt des lignées sélectionnées durant cette thèse pour étudier ces boucles y est développé.

## **5.1. Discussion**

La problématique générale de la thèse était d'étudier expérimentalement les conséquences évolutives et écologiques de la perte de biodiversité.

## 5.1.1. Conséquences écologiques

Dans une première expérience j'ai étudié les conséquences des changements de taille corporelle sur la force de la cascade trophique. Spécifiquement, j'ai comparé la contribution des effets traits-dépendants (i.e. taille et forme corporelle d'un médaka) et densité-dépendants (i.e. présence-absence d'un médaka) sur l'intensité de la cascade trophique.

Cette expérience a confirmé l'importance des variations d'abondance des consommateurs de sommet de réseaux trophiques (effet densité-dépendant) dans le fonctionnement d'un écosystème. Sans le médaka, la population de zooplancton exerce un contrôle négatif sur la densité de phytoplancton ; avec le médaka, la population de zooplancton diminue, relâchant la prédation exercée sur le phytoplancton et augmente de ce fait la biomasse de ce niveau trophique. Cette expérience souligne donc les conséquences écologiques que peuvent avoir les pertes d'espèces de sommet de réseaux trophiques et est en cohérence avec ce qui peut s'observer à des échelles beaucoup plus larges et dans des réseaux trophiques plus complexes (e.g. Daskalov et al. 2007; Myers et al. 2007; Baum and Worm 2009; Estes et al. 2011). En milieu naturel par exemple des auteurs ont montré comment la diminution de la densité de requins (i.e. par exploitation directe et par prises accessoires) a généré un changement drastique de la structure d'un réseau trophique à trois niveaux (Myers et al. 2007). Dans le Nord de l'Atlantique, la diminution des effectifs de plusieurs espèces de grands requins a provoqué l'expansion de leur proies (e.g. raies et petits requins), des mésoprédateurs. Cette expansion a alors induit une diminution drastique des espèces de bivalves consommées par ces mésoprédateurs. Or ces bivalves sont également consommés et exploités par l'Homme. Dans cet exemple, la perte de biodiversité a modifié la dynamique écologique et provoqué à la fois une réduction du service écologique « d'épuration des eaux » et du service écologique « d'approvisionnement ».

Par ailleurs les résultats de cette expérience souligne l'importance des variations de la taille corporelle des consommateurs de sommet de réseaux trophique (effet trait-dépendant) dans le fonctionnement d'un écosystème. Plus le médaka est grand, plus il exerce une pression de prédation forte (i.e. consommation de proie par unité de temps élevée) sur la population de zooplancton et plus l'abondance de la population de phytoplancton augmente. Lorsque le médaka est petit, la cascade trophique est atténuée, l'effet positif du poisson sur l'abondance de phytoplancton est moins important. Notre expérience fournit donc un lien de causalité net entre la taille corporelle d'un individu de sommet de chaîne trophique et l'intensité de la cascade trophique qu'il induit. Elle souligne les conséquences écologiques importantes que peuvent avoir les changements phénotypiques liés à la perte de biodiversité.

En parallèle de ces effets taille-dépendants nous avons cherché à voir si la forme corporelle pouvait également modifier la force des interactions trophiques. Nous avons observé que la forme corporelle du médaka est impliquée dans la force de l'interaction poisson-zooplancton uniquement lorsqu'elle inclue les variations de la taille corporelle. Spécifiquement nous avons observé que les poissons de petite taille corporelle ont, proportionnellement à leur taille, une bouche moins large, une tête moins trapue et des yeux plus petits que les poissons de grande taille corporelle. Ces caractéristiques morphologiques qui co-varient avec la taille corporelle des individus peuvent refléter des différences d'efficacité mécanique, mis en évidence également chez le guppy (Palkovacs et al. 2011). Ce résultat suggère que des changements de taille corporelle pourraient non seulement diminuer les capacités de prédation moyenne d'une population, mais aussi à l'extrême modifier le type de proies consommées (Robinson and Wilson 1994; Kristjánsson 2005). Par exemple une étude a montré que la forme corporelle de perches (Perca fluviatilis L.) est associée à différents régimes alimentaires (Svanbäck and Eklöv 2002). Dans le lac de Trehörningen en Suède, les perches de la zone littorale qui consomment préférentiellement des macroinvertébrés benthiques, sont caractérisées par une tête et un corps plus trapus, une bouche plus large et des nageoires plus longues que les perches de la zone pélagique, qui consomment majoritairement du zooplancton libre (Svanbäck and Eklöv 2002). Dans cette étude la spécialisation trophique est attribuée à des variations de forme corporelle allométriques. Notre étude montre qu'il serait intéressant de vérifier si le lien « formespécialisation trophique » n'est pas uniquement dû à des variations de taille. Si ce lien est dû uniquement à des variations de taille, les changements adaptatifs des populations en réponse

aux pressions anthropiques pourraient également modifier les régimes alimentaires (i.e. modifier les spécialisations trophiques). Dans notre étude un seul type de proie (2 taxons pélagiques) était proposé aux médakas. Il serait intéressant d'étendre l'expérience en incorporant plusieurs types de proies (e.g. pélagiques et benthiques) afin de tester si une spécialisation trophique peut s'expliquer par des différences de forme corporelle non allométrique (i.e. hors taille).

Le résultat majeur de cette expérience concerne l'importance relative des variations de taille corporelle et des variations d'abondance dans l'intensité de la cascade trophique induite par des consommateurs de sommet de réseaux trophiques. Nous avons mis en évidence que les effets indirects (i.e. sur le phytoplancton) de la variation de la taille corporelle (entre un poisson de taille minimale et un poisson de taille maximale) étaient en moyenne 12 % plus forts que les effets de la variation de la densité (entre la présence et l'absence d'un poisson de taille corporelle moyenne). Alors que les cascades trophiques sont principalement attribuées à des variations d'abondances en sommet de réseau trophique (Hairston et al. 1960; Oksanen et al. 1981), nous avons montré que les variations des traits pourraient tout autant modifier les dynamiques écologiques. Ce résultat est corroboré en milieu naturel par une étude qui constate que la diminution de la taille corporelle de poissons en sommet de réseau trophique diminue leur effet « top-down », même si leur densité augmente (i.e. biomasse constante ; Shackell et al. 2010). Notre expérience pourrait être complétée par une analyse des contributions des variations de la taille corporelle et des variations de densité (e.g. 4, 6, 8 poissons) à biomasse constante.

#### 5.1.2. Conséquences évolutives

Dans une seconde expérience j'ai étudié les mécanismes de réponse adaptative des populations naturelles aux pressions anthropiques. Spécifiquement j'ai étudié les effets d'une pression de sélection taille-dépendante pendant plusieurs générations (6 générations).

Nous avons montré par cette expérience de sélection que la taille corporelle est un trait qui peut évoluer rapidement en réponse à la sélection anthropique (i.e. lignée H). Ce résultat est en accord avec de récentes publications qui alertent sur les conséquences des changements micro-évolutifs pour les populations, en particulier pour les populations pêchées (i.e. « fisheries-induced evolution » ; (Conover 2000; Law 2000; Jørgensen et al. 2007; Allendorf

and Hard 2009; Heino and Dieckmann 2009; Sharpe and Hendry 2009; Laugen et al. 2012). Ces changements génétiques sont supposés avoir des conséquences fortes pour les populations car ils pourraient être peu, ou pas réversibles et menaceraient la résilience des populations (Hutchings 2000; Law 2000; Hutchings and Reynolds 2004; Hutchings and Fraser 2007; Jørgensen et al. 2007; Kuparinen and Merilä 2007). Théoriquement le retour à l'optimum adaptatif naturel du trait peut-être rapide si (1) la pression de sélection naturelle sur le trait est suffisamment intense et (2) la variabilité génétique du trait n'a pas été trop fortement érodée. Or, des études ont montré que la mortalité d'origine anthropique, en particulier la mortalité causée par la pêche sur les espèces de sommet de réseau trophique, pouvait être quatre fois supérieure à la mortalité naturelle (e.g. Mertz and Myers 1998). On peut donc supposer que l'évolution en réponse à une pression de sélection naturelle pourrait être lente par rapport à l'évolution induites par les humains (Palumbi 2001). Cette hypothèse est appuyée par David Conover et ses collaborateurs (2009) qui ont montré expérimentalement qu'après 5 générations de sélection vers une petite taille corporelle, un rebond évolutif complet du trait (i.e. retour à la valeur de taille corporelle moyenne d'origine) serait possible mais lent (nécessiterait environ 12 générations). Néanmoins, cette hypothèse est à tempérer car une autre étude montre qu'en seulement quelques générations le taux de croissance somatique moyen de poissons qui ont été soumis à la pêche pourrait rapidement retrouver sa valeur moyenne avant exploitation (Edeline et al. 2007). De plus, si on part du postulat que la sélection naturelle et la sélection anthropique agissent en opposition (e.g. Carlson et al. 2007), on peut supposer que la perte spécifique des individus qui sont naturellement favorisés entraîne une érosion génétique des valeurs des traits naturellement sélectionnés (Allendorf and Hard 2009). Récemment, une étude expérimentale a montré qu'après 3 générations de sélection artificielle bi-directionnelle sur la taille de guppies, les marqueurs génétiques impliqués dans la taille corporelle ont divergé entre lignées, alors que les marqueurs génétiques neutres n'ont pas été affectés par la sélection. Par ailleurs, la réduction de la taille efficace des populations exploitées peut également conduire à une perte de diversité génétique (Allendorf and Hard 2009). Même si cette érosion génétique est aspécifique vis-à-vis des traits soumis à la sélection anthropique, elle peut malgré tout les toucher. La mise en évidence de changements génétiques en réponse à la sélection taille-dépendante dans notre expérience souligne donc l'importance de prendre en compte les conséquences évolutives de la perte de biodiversité afin d'adopter des stratégies de gestion et de conservation des populations adaptées.

Dans cette expérience nous avons observé que l'expression de gènes candidats impliqués dans la régulation la croissance et la reproduction ont été impactés par la sélection taille-dépendante. Nos résultats ont montré que le niveau d'expression de la GH n'est pas plus élevé dans la lignée qui a évolué vers un taux de croissance somatique plus rapide (lignée H) mais qu'il l'est dans la lignée basse (lignée L). Nous pensons que l'augmentation de la croissance somatique dans la lignée H pourrait passer par une augmentation de l'expression des récepteurs de la GH au niveau des tissus cibles (i.e. tissus musculaires et foie). La croissance serait stimulée plus fortement que dans la lignée contrôle mais associée à une plus forte production d'IGFs qui diminuerait en retour le niveau d'expression de la GH et qui pourrait expliquer que les niveaux d'expressions ne soient pas significativement différents. De plus, nous pensons que l'augmentation du niveau de l'expression de la GH dans la lignée basse (lignée L) par rapport au contrôle pourrait être dû à une diminution du rétrocontrôle par des IGFs sur la GH dans cette lignée. Ce phénomène pourrait passer par une diminution du niveau d'expression des récepteurs de la GH au niveau du foie et donc une augmentation de l'expression de la GH. Il serait intéressant d'explorer plus en détail cette piste en quantifiant les niveaux d'expressions des récepteurs de la GH dans le foie et des IGFs. Par ailleurs, la mesure de l'expression des neurohormones gonadotropes FSH et LH a montré que leur expression pouvait être modifiée par la sélection. Nous avons observé que les individus de la lignée qui a évolué vers un taux de croissance somatique plus rapide (i.e. lignée H) a également un âge à maturité sexuelle retardé. Cette tendance est confirmée par les patrons d'expressions des hormones gonadotropes qui sont inférieurs dans la lignée haute (lignée H) à ceux de la lignée basse (lignée L). Cette étape d'investigation des gènes impliqués dans les changements micro-évolutifs en réponse à la sélection taille-dépendante pourrait constituer un premier pas vers la conception d'outils moléculaires permettant l'évaluation des capacités d'adaptations des populations.

L'analyse conjointe de la réponse à la sélection sur le trait sélectionné et sur les traits d'histoire de vie potentiellement corrélés, a révélé une covariance entre la croissance somatique et l'âge de la maturité sexuelle. Ce résultat suggère l'existence d'un trade-off ayant une base génétique entre ces deux traits. La sélection directe des individus de grande taille corporelle (i.e. lignée H) a montré qu'une accélération du taux de croissance somatique s'accompagne d'une augmentation de l'âge de la maturité sexuelle. Ce résultat sexuelle. Ce résultat est en accord avec la théorie de l'évolution des traits d'histoire de vie qui prédit qu'une forte mortalité des

individus les plus petits va favoriser les individus qui grandissent vite, ceux qui allouent leur ressource à la croissance plutôt qu'à la reproduction (Stearns 1989). D'autres études expérimentales ont montré que la sélection sur la taille corporelle pouvait engendrer une réponse adaptative de la croissance somatique (Conover and Munch 2002; Biro and Post 2008). Notre étude, en s'intéressant également à la réponse corrélée de l'âge et de la taille à maturité apporte une information supplémentaire et souligne l'impact global (i.e. sur un ensemble de traits d'histoire de vie) de la sélection sur la taille corporelle. Par ailleurs la mise en œuvre de la sélection artificielle nous a permis de montrer qu'une sélection sur la taille corporelle peut induire une réponse évolutive directe du taux de croissance somatique et indirecte (i.e. corrélée) de l'âge à maturité. Ce résultat pourrait avoir un impact important sur la recherche des causes de l'évolution de la croissance somatique (i.e. questions soulevées par Enberg et al. 2012). Une meilleure connaissance des corrélations génétiques entre traits pourrait permettre de mieux comprendre les conséquences potentielles de la réponse à la sélection anthropique sur la dynamique de la population (i.e. Denney et al. 2002; Hutchings and Reynolds 2004).

Dans cette étude nous avons montré que la fitness moyenne des individus reproducteurs de la lignée basse (lignée L) sont de moins bons reproducteurs (i.e. diminution de la fécondité et de la survie des larves). Ce résultat est corroboré par l'expérience de sélection artificielle sur la taille corporelle de Capucette qui montre que la fécondité tailledépendante dans chaque lignée sélectionnée n'a pas évolué (Walsh et al. 2006). La sélection directionnelle sur la taille, d'une part en empêchant la reproduction des grands individus, mais aussi en engendrant potentiellement une évolution vers une taille corporelle moyenne réduite, pourrait fortement diminuer la fitness moyenne des populations naturelles. Par conséquent ce résultat suggère que le risque d'effondrement d'une port a une sélection anthropique taille-indépendante.

Un résultat important apporté par cette expérience de sélection est qu'il n'y a pas eu de réponse à la sélection dans la lignée sélectionnée vers un abaissement de la taille corporelle moyenne (lignée L). Ce patron de réponse asymétrique à la sélection, (i.e. réponse dans la lignée H et pas, ou moins dans la lignée L) serait un patron relativement courant dans les expériences de sélection (Falconer 1975; Welbergen and van Dijken 1992; Conner et al. 2004). Par exemple Silva Uusi-Heikkilä et ses collaborateurs (2015) ont également montré un patron

de réponse asymétrique à la sélection sur la taille corporelle de poisson zèbre (Danio renio), mais inverse au nôtre (i.e. la lignée L évolue vers une taille corporelle moyenne réduite mais la lignée H ne change pas de taille par rapport à la lignée C). Cette absence de réponse à la sélection dans la lignée basse (lignée L) pourrait signifier dans notre cas qu'une asymétrie génétique existe pour ce caractère. Une sélection directionnelle passée contre les grands individus pourrait être à l'origine de cette distribution allélique asymétrique. En effet une étude récente (Edeline et al. 2016) suggère que les médakas sauvages adultes, après le premier événement de reproduction, entrent en compétition avec leur progéniture et meurent précocement. Ce régime de mortalité élevé des adultes pourrait être la source d'une sélection directionnelle forte en faveur d'une reproduction précoce à une petite taille. Dans le cadre des changements globaux, cette absence de réponse adaptative suggère que certaines espèces, en particulier des petites, pourraient ne pas-être en mesure de répondre aux pressions de sélection anthropiques du fait de contraintes génétiques. Or, une étude de Daniel Pauly et ses collaborateurs (1998) montrent qu'il y a une tendance à l'exploitation d'espèces marines de plus en plus petites. Cette absence d'adaptation pourrait par conséquent accélérer l'érosion de la biodiversité (i.e. via extinction de population) et les changements écologiques (i.e. via des cascades trophiques densité-dépendante). Ce résultat suggère donc qu'une meilleure connaissance de l'architecture génétique des traits des populations sujettes aux pressions de sélection anthropique permettrait de prédire leurs capacités d'adaptations. Par ailleurs, l'absence de réponse à la sélection vers des tailles corporelles réduites pourraient également avoir des implications dans le cadre des effets synergiques des pressions de sélection anthropiques. Par exemple, certaines espèces qui auraient déjà subi des changements adaptatifs en réponse à l'exploitation pourrait ne pas être capable de s'adapter à une nouvelle pression de sélection favorisant les petits individus (e.g. changement climatique). La réponse à la sélection d'exploitation ayant pu engendrer une asymétrie génétique, empêchant une réponse future dans la même direction de sélection.

## 5.2. Perspective

Dans cette thèse nous avons travaillé de manière indépendante sur les conséquences évolutives et écologiques de la perte de biodiversité. De récentes études, dont la nôtre, montrent que les activités humaines constituent des pressions de sélection fortes et génèrent des changements micro-évolutifs dans les populations (**voir chapitre 2**). En quelques générations, les traits qui caractérisent les populations de sommet de réseau évoluent.

Or historiquement, les changements évolutifs étaient considérés comme des changements extrêmement lents qui ne pouvait pas influencer significativement la dynamique écologique. La mise en évidence de cette évolution contemporaine (définie par Fussmann et al. 2007 comme étant observable en laboratoire) des traits a amené des auteurs à reconsidérer les interactions entre les dynamiques évolutives et écologiques (Hairston et al. 2005; Post and Palkovacs 2009; Pelletier et al. 2009; Schoener 2011).

Par ailleurs notre étude montre que des changements de traits (en particulier la taille corporelle) peuvent se répercuter par effet en cascade aux niveaux trophiques inférieurs, autant que la diminution des abondances des populations en sommet de réseau. Des changements micro-évolutifs découlant de la perte de biodiversité, pourraient donc, dans un délai très court, affecter les dynamiques écologiques par des effets en cascade.

Or la sélection naturelle provient directement de l'environnement, cette modification des dynamiques écologiques pourrait donc affecter en retour la dynamique évolutive des populations. On appelle cet effet de la dynamique évolutive sur la dynamique écologique qui agit en retour sur la dynamique évolutive, une boucle de rétro-contrôle éco-évolutive (Dieckmann and Ferrière 2004; Post and Palkovacs 2009; **voir Figure 20**).



Figure 20: Boucle de rétrocontrôle éco-évolutive (d'après Ferriere and Legendre 2013). Des pressions de sélection complexes s'exercent sur les caractères phénotypiques des individus qui émanent de l'interaction des individus avec leur environnement local - constitué de congénères, les proies et les prédateurs, les parasites, les symbiotes, et dans leur contexte de l'écosystème. Les caractères adaptatifs héritables répondent à ces pressions, et à leur tour affectent l'impact des individus sur leur environnement. Cette boucle de rétroaction, de l'environnement aux individus, et des individus à l'environnement , lie intimement les processus écologiques et évolutifs.

Eco-evolutionary feedback loop (from Ferriere and Legendre 2013). Complex selective pressures on individuals' phenotypic traits emanate from the interaction of individuals with their local environment - consisting of conspecifics, prey and predators, mutualists and parasites, in their ecosystem context. Heritable variation in adaptive traits responds to these pressures, and in turn affects how these individuals impact their environment. This feedback loop - from the environment to the individuals, and back - intimately links ecological and evolutionary processes.

Dans une publication de David Post et Eric Palkovacs (2009), 5 exemples empiriques suggérant l'existence de boucles de rétroactions éco-évolutives sont présentés. Afin de faciliter la compréhension du mécanisme, nous allons détailler un de leurs exemples faisant intervenir l'évolution de l'Alose (*Alosa sp.*). L'alose est un poisson migrateur anadrome qui se reproduit en eau douce. Dans les milieux où les populations peuvent encore effectuer leur migration, les juvéniles grandissent en lac et consomment du zooplancton en fonction de leur taille (i.e. petit

zooplancton et ensuite grand zooplancton). Lorsque les jeunes aloses quittent le lac, la population de zooplancton retrouve sa gamme de taille complète (i.e. petit et grand zooplancton). Dans les milieux où des barrages ont été construits, l'alose est devenue sédentaire. La sédentarisation de l'alose a généré une pression de sélection intense contre le zooplancton. En réponse à cette pression, le zooplancton a évolué vers une taille corporelle moyenne réduite. Cette réponse à la prédation a provoqué en retour une sélection en faveur des aloses ayant une plus petite bouche et des branchiospines moins espacées que leur congénère anadrome. Ainsi on comprend comment l'évolution du comportement migratoire, associé à des différences comportement de prédation peut altérer la dynamique écologique, qui en retour modifie la dynamique évolutive.

Des études récentes suggèrent qu'il ne serait pas possible de prédire correctement la dynamique complète d'une population (i.e. maintien, croissance, effondrement), et d'une communauté, sans prendre en compte les boucles de rétrocontrôle éco-évolutives (Yoshida et al. 2003; Dieckmann and Ferrière 2004). En effet, la prise en compte de ces boucles permettrait de mieux comprendre la diversité des réactions des populations face à l'évolution (e.g. sauvetage évolutif, détérioration, ou à l'extrême suicide évolutif ; Ellner 2013; Ferriere and Legendre 2013).

Par exemple on emploie le terme de détérioration évolutive quand la trajectoire évolutive d'une population amène son effectif à diminuer, détérioration qui provient d'une boucle. Si l'on reprend le paysage adaptatif de la **Figure 6**, on voit que l'évolution d'un trait en réponse à l'action combinée de la sélection naturelle et artificielle améliore la fitness de la population (t3). Si l'on ajoute à cela l'effet de l'évolution dans la communauté, on peut imaginer que la forme de la sélection naturelle change (**Figure 21** ; nouvelle courbe noire). Par conséquent, l'ensemble de la boucle de rétrocontrôle éco-évolutive peut détériorer la fitness (t4).

Dans le cadre de la perte de biodiversité, cet exemple théorique illustre la nécessité de prendre en compte les boucles éco-évolutives, pour prédire le devenir des populations et des communautés (Ferrière et al. 2004; Kinnison and Hairston 2007).



Figure 21: Paysage adaptatif simplifié où la fonction de fitness W(z) est associée à un seul trait z. Le point bleu correspond à la valeur moyenne du trait z dans la population. Un pic définit un optimum local de fitness. La courbe noire définit le paysage adaptatif sous sélection naturelle stabilisante. En trait pointillé noir c'est le paysage avant la perturbation anthropique, en trait continu c'est le paysage après la perturbation (i.e. effet de l'évolution du trait dans la dynamique écologique). La courbe orange définit le paysage adaptatif sous sélection anthropique directionnelle. La courbe rouge définit le paysage adaptatif lorsque les deux sélections, naturelle et anthropique s'appliquent sur le trait. En trait pointillé c'est le paysage avant la boucle de rétrocontrôle éco-évolutive, en trait continu c'est le paysage en tenant compte de la boucle de rétrocontrôle. En prenant en compte la boucle de rétrocontrôle l'optimum local de fitness t4 est plus bas que t3.

Simplified adaptive landscape where the fitness function W(z) is associated with a single trait z. The blue dot is the average z value in the population. An adaptive peak defines a local fitness optimum. The black curve corresponds to the adaptive landscape under stabilizing natural selection. The black dotted curve corresponds to the adaptive landscape before anthropic pressure and the black solid curve is after anthropic pressure (i.e. with the trait evolution effect in ecological dynamic). The orange curve corresponds to the adaptive landscape under anthropogenic directional selection. The red curve corresponds to the adaptive landscape before landscape when both selections are applied. The red dotted curve is the adaptive landscape before the eco-evolutionary feedback loop, the red solid curve is with the loop. Local fitness optimum is lower when the loop is taking into account (t4).

Néanmoins les exemples empiriques de boucles de rétrocontrôle éco-évolutives sont, à ce jour, encore rares. Les lignées sélectionnées durant cette thèse permettraient d'étudier expérimentalement la boucle de rétrocontrôle éco-évolutive agissant en réponse à la sélection anthropique. Les trois populations génétiquement divergentes pourraient être placées en

mésocosmes en différentes densités (e.g. 0, 10, 50, 100 médakas) au sein d'un réseau trophique (i.e. zooplancton, phytoplancton, insectes aquatiques, de différents groupes fonctionnels). Cette expérience permettrait d'étudier (1) les contributions relatives à la cascade trophique de l'évolution et des densités des médakas et (2) d'estimer l'effet de l'évolution et des densités sur la forme de la sélection naturelle agissant en retour sur les traits des poissons. Les individus de la lignée H (exploités pour des petites tailles corporelles) ont évolués vers un taux de croissance somatique rapide. Des auteurs ont montré qu'un taux de croissance somatique élevé peut-être associé à un comportement de prédation « audacieux », voir imprudent (Stamps 2007; voir aussi Biro and Post 2008). Si le médaka ne se trouve pas en sommet de réseau trophique (e.g. il pourrait en effet être consommés par des insectes aquatiques prédateurs), alors une évolution vers un taux de croissance rapide pourrait modifier la forme de la sélection naturelle et défavoriser ces individus qui seraient plus facilement prédatés. Par ailleurs, la théorie du R\* de Tilman permet de prédire l'issue des interactions basées sur la compétition par exploitation (Tilman 1982). Au niveau individuel, le R\* est défini comme la densité de ressources pour laquelle le taux de croissance corporelle égale le taux métabolique. Ainsi, les individus à croissance rapide pourraient être capables d'exploiter de manière plus efficace leur ressource, ils seraient alors favorisés car ils acquerraient un R\* plus faible que des individus à croissance lente. À l'inverse, les individus à croissance rapide pourraient avoir des besoins métaboliques plus grands que les individus à croissance lente. En effet les besoins énergétiques basaux pourraient être augmentés si leur comportement de prédation est plus audacieux (e.g. Fonds et al. 1992). Ils seraient alors potentiellement défavorisés car ils acquerraient un R\* plus élevé que des individus à croissance lente.

# Références bibliographiques

- Abràmoff MD, Magalhães PJ, Ram SJ (2004) Image processing with ImageJ. Biophotonics Int 11:36–42.
- Adams DC, Otárola-Castillo E (2013) geomorph: an R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. Methods Ecol Evol 4:393–399.
- Allee WC, Park O, Emerson AE, et al (1949) Principles of animal ecology. WB Saunders Co. Ltd, Philadelphia
- Allendorf FW, Hard JJ (2009) Human-induced evolution caused by unnatural selection through harvest of wild animals. Proc Natl Acad Sci 106:9987–9994.
- Angulo E, Roemer GW, BEREC L, et al (2007) Double Allee effects and extinction in the island fox. Conserv Biol 21:1082–1091.
- Barbault R (2008) Un éléphant dans un jeu de quilles: l'Homme dans la biodiversité. Seuil, Paris
- Barneche DR, Kulbicki M, Floeter SR, et al (2014) Scaling metabolism from individuals to reef-fish communities at broad spatial scales. Ecol Lett 17:1067–1076.
- Barnosky AD, Hadly EA, Bascompte J, et al (2012) Approaching a state shift in Earth 's biosphere. Nature 486:52–58.
- Barnosky AD, Koch PL, Feranec RS, et al (2004) Assessing the causes of Late Pleistocene extinctions on the continents. Science 306:70–75.
- Barot S, Heino M, O'Brien L, Dieckmann U (2004) Long-term trend in the maturation reaction norm of two cod stocks. Ecol Appl 14:1257–1271.
- Bassar RD, Ferriere R, Lopez-Sepulcre A, et al (2012) Direct and Indirect Ecosystem Effects of Evolutionary Adaptation in the Trinidadian Guppy (Poecilia reticulata). Am Nat 180:167-172.
- Baum JK, Worm B (2009) Cascading top-down effects of changing oceanic predator abundances. J Anim Ecol 78:699–714. doi: 10.1111/j.1365-2656.2009.01531.x
- Betancur-R. R, Broughton RE, Wiley EO, et al (2013) The Tree of Life and a New Classification of Bony Fishes. PLoS Curr Tree of Life.
- Beutler M, Wiltshire KH, Meyer B, et al (2002) A fluorometric method for the differentiation of algal populations in vivo and in situ. Photosynth Res 72:39–53.

Binzer A, Guill C, Rall BC, Brose U (2015) Interactive effects of warming, eutrophication and

size structure: impacts on biodiversity and food-web structure. Glob Change Biol. 1:220-227.

- Biro PA, Post JR (2008) Rapid depletion of genotypes with fast growth and bold personality traits from harvested fish populations. Proc Natl Acad Sci 105:2919–2922.
- Blueweiss L, Fox H, Kudzma V, et al (1978) Relationships between body size and some life history parameters. Oecologia 37:257–272.
- Boback SM, Guyer C (2003) Empirical evidence for an optimal body size in snakes. Evolution 57:345–451.
- Bonsall MB, Hassell MP (2005) Understanding Ecological Concepts: The Role of Laboratory Systems. In: Advances in Ecological Research. Academic Press, pp 1–36
- Bradshaw WE, Holzapfel CM (2006) Evolutionary response to rapid climate change. Science(Washington) 312:1477–1478.
- Brown JH, Gillooly JF, Allen AP, et al (2004) Toward a metabolic theory of ecology. Ecology 85:1771–1789.
- Brown JH, Sibly RM (2006) Life-history evolution under a production constraint. Proc Natl Acad Sci USA 103:17595–17599.
- Butchart SH, Walpole M, Collen B, et al (2010) Global biodiversity: indicators of recent declines. Science 328:1164–1168.
- Calder WA (1984) Size, function, and life history. Harvard University Press, Cambridge
- Canosa LF, Chang JP, Peter RE (2007) Neuroendocrine control of growth hormone in fish. Gen Comp Endocrinol 151:1–26.
- Cardinale BJ, Duffy JE, Gonzalez A, et al (2012) Biodiversity loss and its impact on humanity. Nature 486:59–67. doi: 10.1038/nature11148
- Cardinale BJ, Srivastava DS, Emmett Duffy J, et al (2006) Effects of biodiversity on the functioning of trophic groups and ecosystems. Nature 443:989–992.
- Carlson SM, Edeline E, Asbjørn Vøllestad L, et al (2007) Four decades of opposing natural and human-induced artificial selection acting on Windermere pike (Esox lucius). Ecol Lett 10:512–521.
- Carpenter SR, Kitchell JF (1993) The trophic cascade in lakes. Cambridge University Press, Cambridge
- Carpenter SR, Kitchell JF, Hodgson JR (1985) Cascading trophic interactions and lake productivity. BioScience 35:634–639.
- Carroll SP, Hendry AP, Reznick DN, Fox CW (2007) Evolution on ecological time-scales. Funct Ecol 21:387–393.

- Carver AM, Wolcott TG, Wolcott DL, Hines AH (2005) Unnatural selection: effects of a malefocused size-selective fishery on reproductive potential of a blue crab population. J Exp Mar Biol Ecol 319:29–41.
- Ceballos G, Ehrlich PR, Barnosky AD, et al (2015) Accelerated modern human-induced species losses: Entering the sixth mass extinction. Sci Adv 1:e1400253–e1400253.
- Chapin III FS, Walker BH, Hobbs RJ, et al (1997) Biotic control over the functioning of ecosystems. Science 277:500.
- Chapin III FS, Zavaleta ES, Eviner VT, et al (2000) Consequences of changing biodiversity. Nature 405:234–242.
- Charlesworth D, Charlesworth B (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. Annu Rev Ecol Syst 237–268.
- Charlton H (2008) Hypothalamic control of anterior pituitary function: a history. J Neuroendocrinol 20:641–646.
- Cohen JE, Pimm SL, Yodzis P, Saldaña J (1993) Body Sizes of Animal Predators and Animal Prey in Food Webs. J Anim Ecol 62:67–78.
- Coltman DW, O'Donoghue P, Jorgenson JT, et al (2003) Undesirable evolutionary consequences of trophy hunting. Nature 426:655–658. doi: 10.1038/nature02177
- Conner JK, Hartl DL, others (2004) A primer of ecological genetics. Sinauer Associates Incorporated, USA
- Conover DO (2000) Darwinian fishery science. Mar Ecol-Prog Ser 208:303–307.
- Conover DO, Baumann H (2009a) PERSPECTIVE: The role of experiments in understanding fishery-induced evolution: Experiments to understand fishery-induced evolution. Evol Appl 2:276–290.
- Conover DO, Baumann H (2009b) The role of experiments in understanding fishery-induced evolution.
- Conover DO, Munch SB (2002) Sustaining fisheries yields over evolutionary time scales. Science 297:94–96.
- Conover DO, Munch SB, Arnott SA (2009) Reversal of evolutionary downsizing caused by selective harvest of large fish. Proc R Soc B Biol Sci 276:2015–2020.
- Cossins AR, Crawford DL (2005) Fish as models for environmental genomics. Nat Rev Genet 6:324–333.
- Courchamp F, Clutton-Brock T, Grenfell B (1999) Inverse density dependence and the Allee effect. Trends Ecol Evol 14:405–410.

Dajoz R (2006) Précis d'écologie, Sciences Sup. Dunod, Paris

- Danchin É, Giraldeau L-A, Cézilly F (2005) Ecologie Comportementale. Cours et Questions de rélexion. Dunod, Paris
- Darimont CT, Carlson SM, Kinnison MT, et al (2009) Human predators outpace other agents of trait change in the wild. Proc Natl Acad Sci 106:952–954.
- Darwin C (1859) On the origin of species by means of natural selection, or the oreservation of favoured races in the struggle for life., First ed. John Murray, London
- Daskalov GM, Grishin AN, Rodionov S, Mihneva V (2007) Trophic cascades triggered by overfishing reveal possible mechanisms of ecosystem regime shifts. Proc Natl Acad Sci 104:10518–10523.
- Daufresne M, Lengfellner K, Sommer U (2009) Global warming benefits the small in aquatic ecosystems. Proc Natl Acad Sci 106:12788–12793.
- Davesne D, Lecointre G (2015) La phylogénie des téléostéens: un chantier des méthodes en systématique. Biosystema 13–32.
- de Ruiter PC, Neutel A-M, Moore JC (1995) Energetics, patterns of interaction strengths, and stability in real ecosystems. Science 269:1257.
- Delany MF, Leenhouts WP, Sauselein B, Kale II HW (1981) The 1980 dusky seaside sparrow survey. Fla Field Nat 9:64–67.
- Denney NH, Jennings S, Reynolds JD (2002) Life–history correlates of maximum population growth rates in marine fishes. Proc R Soc Lond B Biol Sci 269:2229–2237.
- De-Santis C, Jerry DR (2007) Candidate growth genes in finfish—Where should we be looking? Aquaculture 272:22–38.
- Diaz Pauli B, Heino M (2014) What can selection experiments teach us about fisheriesinduced evolution? Biol J Linn Soc 111:485–503.
- Díaz S, Fargione J, Chapin III FS, Tilman D (2006) Biodiversity loss threatens human wellbeing. PLoS Biol 4:e277.
- Dieckmann U, Ferrière R (2004) Adaptive dynamics and evolving biodiversity. Evol Conserv Biol 188–224.
- Duffy JE (2003) Biodiversity loss, trophic skew and ecosystem functioning. Ecol Lett 6:680–687.
- Edeline E, Carlson SM, Stige LC, et al (2007) Trait changes in a harvested population are driven by a dynamic tug-of-war between natural and harvest selection. Proc Natl Acad Sci 104:15799–15804.
- Edeline E, Lacroix G, Delire C, et al (2013) Ecological emergence of thermal clines in body size. Glob Change Biol 19:3062–3068.
- Edeline E, Terao O, Naruse K (2016) Empirical evidence for competition-driven semelparity

in wild medaka. Popul Ecol 1–13.

- Ehrlich PR, Mooney HA (1983) Extinction, substitution, and ecosystem services. BioScience 33:248–254.
- Ehrlich PR, Wilson EO (1991) Biodiversity studies: science and policy. Science 253:758.
- Ellner SP (2013) Rapid evolution: from genes to communities, and back again? Funct Ecol 27:1087–1099.
- Enberg K, Jørgensen C, Dunlop ES, et al (2012) Fishing-induced evolution of growth: concepts, mechanisms and the empirical evidence. Mar Ecol 33:1–25.
- Estes JA, Duggins DO (1995) Sea otters and kelp forests in Alaska: generality and variation in a community ecological paradigm. Ecol Monogr 65:75–100.
- Estes JA, Terborgh J, Brashares JS, et al (2011) Trophic downgrading of planet earth. Science 333:301–306.
- Falconer DS (1975) Introduction to quantitative genetics. Second ed. Longman Scientific and Technical, New York.
- FAO (2014) The State of World Fisheries and Aquaculture. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Rome
- Fenberg PB, Roy K (2007) Ecological and evolutionary consequences of size-selective harvesting: how much do we know? Mol Ecol 17:209–220.
- Ferrière R, Dieckmann U, Couvet D (2004) Evolutionary conservation biology. Cambridge University Press Cambridge
- Ferriere R, Legendre S (2013) Eco-evolutionary feedbacks, adaptive dynamics and evolutionary rescue theory. Phil Trans R Soc B 368:20120081.
- Festa-Bianchet M (2003) Exploitative wildlife management as a selective pressure for lifehistory evolution of large mammals. Anim Behav Wildl Conserv 191–207.
- Fischer J, Lindenmayer DB (2007) Landscape modification and habitat fragmentation: a synthesis. Glob Ecol Biogeogr 16:265–280.
- Folke C, Carpenter S, Walker B, et al (2004) Regime shifts, resilience, and biodiversity in ecosystem management. Annu Rev Ecol Evol Syst 557–581.
- Fonds M, Cronie R, Vethaak AD, Van der Puyl P (1992) Metabolism, food consumption and growth of plaice (Pleuronectes platessa) and flounder (Platichthys flesus) in relation to fish size and temperature. Neth J Sea Res 29:127–143.

Foster JB (1964) Evolution of mammals on islands. Nature 4929:234-235

Frankham R (2005) Genetics and extinction. Biol Conserv 126:131–140.

- Fraser WR, Trivelpiece WZ, Ainley DG, Trivelpiece SG (1992) Increases in Antarctic penguin populations: reduced competition with whales or a loss of sea ice due to environmental warming? Polar Biol 11:525–531.
- Fuller RC, Baer CF, Travis J (2005) How and when selection experiments might actually be useful. Integr Comp Biol 45:391–404.
- Furutani-Seiki M, Wittbrodt J (2004) Medaka and zebrafish, an evolutionary twin study. Medaka 121:629–637.
- Fussmann GF, Loreau M, Abrams PA (2007) Eco-evolutionary dynamics of communities and ecosystems. Funct Ecol 21:465–477.
- Gardner JL, Peters A, Kearney MR, et al (2011) Declining body size: a third universal response to warming? Trends Ecol Evol 26:285–291.
- Garilli V, Rodolfo-Metalpa R, Scuderi D, et al (2015) Physiological advantages of dwarfing in surviving extinctions in high-CO2 oceans.
- Garland Jr T (2003) Selection experiments: an under-utilized tool in biomechanics and organismal biology. Vertebr Biomech Evol 23–56.
- Genner MJ, Sims DW, Southward AJ, et al (2009) Body size-dependent responses of a marine fish assemblage to climate change and fishing over a century-long scale. Glob Change Biol 16:517–527.
- Ghoneum MMH, Egami N (1982) Age related changes in morphology of the thymus of the fish, Oryzias latipes. Exp Gerontol 17:33–40.
- Gorsky G, Ohman MD, Picheral M, et al (2010) Digital zooplankton image analysis using the ZooScan integrated system. J Plankton Res 32:285–303.
- Hairston NG, Ellner SP, Geber MA, et al (2005) Rapid evolution and the convergence of ecological and evolutionary time. Ecol Lett 8:1114–1127.
- Hairston NG, Smith FE, Slobodkin LB (1960) Community structure, population control, and competition. Am Nat 421–425.
- Hall RO, Koch BJ, Marshall MC, et al (2007) How body size mediates the role of animals in nutrient cycling in aquatic ecosystems. Body Size Struct Funct Aquat Ecosyst 286– 305.
- Hansen TF, Pélabon C, Houle D (2011) Heritability is not evolvability. Evol Biol 38:258–277.
- Hatakeyama H, Nakamura K-I, Izumiyama-Shimomura N, et al (2008) The teleost Oryzias latipes shows telomere shortening with age despite considerable telomerase activity throughout life. Mech Ageing Dev 129:550–557.
- Heino M, Dieckmann U (2009) Fisheries-induced Evolution. In : Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Ltd. Chichester

- Heino M, Dieckmann U, Godø OR (2002) Measuring probabilistic reaction norms for age and size at maturation. Evolution 56:669–678.
- Heino M, Godø OR (2002) Fisheries-induced selection pressures in the context of sustainable fisheries. Bull Mar Sci 70:639–656.
- Hirshfield MF (1980) An Experimental Analysis of Reproductive Effort and Cost in the Japanese Medaka, Oryzias Latipes. Ecology 61:282–292.
- Hooper DU, Chapin FS, Ewel JJ, et al (2005) Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. Ecol Monogr 75:3–35.
- Hughes L (2000) Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? Trends Ecol Evol 15:56–61.
- Hunt G, Roy K (2006) Climate change, body size evolution, and Cope's Rule in deep-sea ostracodes. Proc Natl Acad Sci U S A 103:1347–1352.
- Hutchings JA (2002) Life histories of fish. Handb Fish Biol Fish Vol 1 Fish Biol 149-174.
- Hutchings JA (2004) Evolutionary biology: The cod that got away. Nature 428:899–900.
- Hutchings JA (2000) Collapse and recovery of marine fishes. Nature 406:882-885.
- Hutchings JA, Reynolds JD (2004) Marine fish population collapses: consequences for recovery and extinction risk. BioScience 54:297–309.
- Hutchings JB, Fraser DJ (2007) The nature of fisheries-and farming-induced evolution. Mol Ecol 17:294–313.
- Iwamatsu T (2004) Stages of normal development in the medaka Oryzias latipes. Mech Dev 121:605–618.
- Jackson JB, Kirby MX, Berger WH, et al (2001) Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. Science 293:629–637.
- Jennings S, Reynolds JD, Mills SC (1998) Life history correlates of responses to fisheries exploitation. Proc R Soc Lond B Biol Sci 265:333–339.
- Jerozolimski A, Peres CA (2003) Bringing home the biggest bacon: a cross-site analysis of the structure of hunter-kill profiles in Neotropical forests. Biol Conserv 111:415–425.
- Jørgensen C, Enberg K, Dunlop ES, et al (2007) Ecology-Managing evolving fish stocks. Science 318:1247–1248.
- Kasahara M, Naruse K, Sasaki S, et al (2007) The medaka draft genome and insights into vertebrate genome evolution. Nature 447:714–719.
- Katsumura T, Oda S, Tsukamoto K, et al (2012) A population genetic study on the relationship between medaka fish and the spread of wet-rice cultivation across the Japanese archipelago. Anthropol Sci 120:81–89.
- Keddy PA, Cough L, Nyman JA, et al (2009) Alligator hunters, pelt traders, and runaway consumption of Gulf Coast marshes. Hum Impacts Salt Marshes Glob Perspect UC Berkeley Press Berkeley CA 115–133.
- Kelly MW, Padilla-Gamiño JL, Hofmann GE (2013) Natural variation and the capacity to adapt to ocean acidification in the keystone sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. Glob Change Biol 19:2536–2546.
- Kinnison MT, Hairston NG (2007) Eco-evolutionary conservation biology: contemporary evolution and the dynamics of persistence. Funct Ecol 21:444–454.
- Kinoshita M, Murata K, Naruse K, Tanaka M (2009) Medaka: Biology, Management, and Experimental Protocols. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa
- Kirchmaier S, Naruse K, Wittbrodt J, Loosli F (2015) The Genomic and Genetic Toolbox of the Teleost Medaka (Oryzias latipes). Genetics 199:905–918.
- Knight TM, McCoy MW, Chase JM, et al (2005) Trophic cascades across ecosystems. Nature 437:880–883.
- Kristjánsson BK (2005) Rapid Morphological Changes in Threespine Stickleback, Gasterosteus aculeatus, in Freshwater. Environ Biol Fishes 74:357–363.
- Kroeker KJ, Sanford E, Jellison BM, Gaylord B (2014) Predicting the effects of ocean acidification on predator-prey interactions: A conceptual framework based on coastal molluscs. Biol Bull 226:211–222.
- Kuparinen A, Merilä J (2007) Detecting and managing fisheries-induced evolution. Trends Ecol Evol 22:652–659.
- Lande R (1988) Genetics and demography in biological conservation. Science(Washington) 241:1455–1460.
- Lande R, Arnold SJ (1983) The measurement of selection on correlated characters. Evolution 1210–1226.
- Laugen AT, Engelhard GH, Whitlock R, et al (2012) Evolutionary impact assessment: accounting for evolutionary consequences of fishing in an ecosystem approach to fisheries management. Fish and Fisheries. 15:65-96.
- Law R (2000) Fishing, selection, and phenotypic evolution. ICES J Mar Sci 57:659–668.
- Law W, Salick J (2005) Human-induced dwarfing of Himalayan snow lotus, Saussurea laniceps (Asteraceae). Proc Natl Acad Sci U S A 102:10218–10220.
- Le Gac F, Blaise O, Fostier A, et al (1993) Growth hormone (GH) and reproduction: a review. Fish Physiol Biochem 11:219–232.
- Leaf RT, Jiao Y, Murphy BR, et al (2011) Life-history characteristics of Japanese medaka Oryzias latipes. Copeia 2011:559–565.

- Lévêque C, Mounolou J-C (2008) Biodiversité-2e éd.: Dynamique biologique et conservation. Dunod. Paris
- Lindeman RL (1942) The trophic-dynamic aspect of ecology. Ecology 23:399-417.
- Lomolino MV (2005) Body size evolution in insular vertebrates: generality of the island rule. J Biogeogr 32:1683–1699.
- Lomolino MV, Channell R, Perault DR, Smith GA (2001) Downsizing nature: anthropogenic dwarfing of species and ecosystems. In: Biotic homogenization. Springer, pp 223–243
- Loreau M, Naeem S, Inchausti P, et al (2001) Biodiversity and ecosystem functioning: current knowledge and future challenges. Science 294:804–808.
- Lövei GL (1997) Biodiversity: global change through invasion. Nature 388:627–628.
- Lush JL (1947) Family Merit and Individual Merit as Bases for Selection. Part I. Am Nat 81:241–261.
- Magurran AE (2005) Evolutionary ecology: the Trinidadian guppy. Oxford University Press. Oxford
- May R (2007) Theoretical ecology: principles and applications. Oxford University Press on Demand. Oxford
- McKinney ML (1997) Extinction vulnerability and selectivity: combining ecological and paleontological views. Annu Rev Ecol Syst 495–516.
- McKinnon JS, Rundle HD (2002) Speciation in nature: the threespine stickleback model systems. Trends Ecol Evol 17:480–488.
- Meiri S, Dayan T, Simberloff D (2005) Area, isolation and body size evolution in insular carnivores. Ecol Lett 8:1211–1217.
- Mertz G, Myers RA (1998) A simplified formulation for fish production. Can J Fish Aquat Sci 55:478–484.
- Millennium Ecosystem Assessment (2005) Ecosystem and Human well-being: Synthesis. Island Press, Washington
- Miller RB (1957) Have the genetic patterns of fishes been altered by introductions or by selective fishing? J Fish Board Can 14:797–806.
- Milner JM, Nilsen EB, Andreassen HP (2007) Demographic side effects of selective hunting in ungulates and carnivores. Conserv Biol 21:36–47.
- Mommsen TP (2001) Paradigms of growth in fish. 4TH Int Symp Fish Endocrinol 129:207–219.
- Moore JW, Schindler DE, Carter JL, et al (2007) Biotic control of stream fluxes: spawning salmon drive nutrient and matter export. Ecology 88:1278–1291.

- Myers RA, Baum JK, Shepherd TD, et al (2007) Cascading effects of the loss of apex predatory sharks from a coastal ocean. Science 315:1846–1850.
- Nakabō T (2002) Fishes of Japan: with pictorial keys to the species, English edition. Tokai University Press. Tokyo
- Naruse K, Hori H, Shimizu N, et al (2004) Medaka genomics: a bridge between mutant phenotype and gene function. Mech Dev 121:619–628.
- Naruse K, Tanaka M, Takeda H (2011) Medaka: A Model for Organogenesis, Human Disease, and Evolution, Springer. Tokyo
- Near TJ, Eytan RI, Dornburg A, et al (2012) Resolution of ray-finned fish phylogeny and timing of diversification. Proc Natl Acad Sci 109:13698–13703.
- Nicholson AJ (1954) An outline of the dynamics of animal populations. Aust J Zool 2:9-65.
- Oksanen L, Fretwell SD, Arruda J, Niemela P (1981) Exploitation ecosystems in gradients of primary productivity. Am Nat 118:240–261.
- Olsen EM, Heino M, Lilly GR, et al (2004) Maturation trends indicative of rapid evolution preceded the collapse of northern cod. Nature 428:932–935.
- Organisation des Nations Unies (1992) Convention sur la diversité biologique. Conférence des Nations Unies sur l'environnement et le développement. Nations Unis, Rio de Janeiro
- Ou M, Hamilton TJ, Eom J, et al (2015) Responses of pink salmon to CO2-induced aquatic acidification. Nat Clim Change 5:950–955.
- Paine RT (1980) Food webs: linkage, interaction strength and community infrastructure. J Anim Ecol 49:667–685.
- Palkovacs EP, Kinnison MT, Correa C, et al (2012) Fates beyond traits: ecological consequences of human-induced trait change. Evol Appl 5:183–191.
- Palkovacs EP, Marshall MC, Lamphere BA, et al (2009) Experimental evaluation of evolution and coevolution as agents of ecosystem change in Trinidadian streams. Philos Trans R Soc B Biol Sci 364:1617–1628.
- Palkovacs EP, Wasserman BA, Kinnison MT (2011) Eco-evolutionary trophic dynamics: loss of top predators drives trophic evolution and ecology of prey. PLoS One 6:e18879.
- Palumbi SR (2001) Humans as the world's greatest evolutionary force. Science 293:1786–1790.
- Pauly D, Christensen V, Dalsgaard J, et al (1998) Fishing down marine food webs. Science 279:860–863.
- Pelletier F, Garant D, Hendry AP (2009) Eco-evolutionary dynamics. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 364:1483–1489.

- Peters RH (1983) The ecological implications of body size. Cambridge University Press, Cambridge
- Pierce JG, Parsons TF (1981) Glycoprotein hormones: structure and function. Annu Rev Biochem 50:465–495.
- Pimm SL, Jones HL, Diamond J (1988) On the risk of extinction. Am Nat 757-785.
- Pimm SL, Russell GJ, Gittleman JL, et al (1995) The future of biodiversity. Sci-AAAS-Wkly Pap Ed 269:347–349.
- Policansky D (1993) Fishing as a cause of evolution in fishes. In: The exploitation of evolving resources. Springer, pp 1–18
- Post DM, Palkovacs EP (2009) Eco-evolutionary feedbacks in community and ecosystem ecology: interactions between the ecological theatre and the evolutionary play. Philos Trans R Soc B Biol Sci 364:1629–1640.
- Post DM, Palkovacs EP, Schielke EG, Dodson SI (2008) Intraspecific variation in a predator affects community structure and cascading trophic interactions. Ecology 89:2019–2032.
- Power ME, Tilman D, Estes JA, et al (1996) Challenges in the quest for keystones. BioScience 46:609–620.
- Purvis A, Agapow P-M, Gittleman JL, Mace GM (2000) Nonrandom extinction and the loss of evolutionary history. Science 288:328–330.
- R Core Team (2014) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Ray J, Redford KH, Steneck R, Berger J (2013) Large carnivores and the conservation of biodiversity. Island Press. Washington
- Resetarits WJ, Bernardo J (1998) Experimental ecology: issues and perspectives. Oxford University Press on Demand. Oxford
- Reznick DN, Ghalambor CK (2001) The population ecology of contemporary adaptations: what empirical studies reveal about the conditions that promote adaptive evolution. Genetica 112:183–198.
- Reznick DN, Ghalambor CK (2005) Can commercial fishing cause evolution? Answers from guppies (Poecilia reticulata). Can J Fish Aquat Sci 62:791–801.
- Ricker WE (1981) Changes in the average size and average age of Pacific salmon. Can J Fish Aquat Sci 38:1636–1656.
- Robinson BW, Wilson DS (1994) Character release and displacement in fishes: a neglected literature. Am Nat 144:596–627.

Roff DA (1992) The evolution of life histories: Theory and analysis. Chapman & Hall, New

York

- Roff DA, Mostowy S, Fairbairn DJ (2002) The evolution of trade-offs: testing predictions on response to selection and environmental variation. Evolution 56:84–95.
- Rohlf FJ (2010) tpsDig: Digitize landmarks and outline. Department of Ecology and Evolution, New York
- Rosser AM, Mainka SA (2002) Overexploitation and species extinctions. Conserv Biol 16:584–586.
- Rousseau K, Dufour S (2007) Comparative aspects of GH and metabolic regulation in lower vertebrates. Neuroendocrinology 86:165–174.
- Rousseau K, Huang Y-S, Le Belle N, et al (1998) Long-term inhibitory effects of somatostatin and insulin-like growth factor 1 on growth hormone release by serum-free primary culture of pituitary cells from European eel (Anguilla anguilla). Neuroendocrinology 67:301–309.
- Ryman N, Utter F, Laikre L (1995) Protection of intraspecific biodiversity of exploited fishes. Rev Fish Biol Fish 5:417–446.
- Sakahira F, Niimi M (2007) Ancient DNA analysis of the Japanese sea lion (Zalophus californianus japonicus Peters, 1866): Preliminary results using mitochondrial control-region sequences. Zoolog Sci 24:81–85.
- Sakaizumi M (1986) Genetic divergence in wild populations of Medaka, Oryzias latipes (Pisces: Oryziatidae) from Japan and China. Genetica 69:119–125.
- Saura M, Moran P, Brotherstone S, et al (2010) Predictions of response to selection caused by angling in a wild population of Atlantic salmon (Salmo salar). Freshw Biol 55:923–930.
- Scheffer M, Carpenter S, de Young B (2005) Cascading effects of overfishing marine systems. Trends Ecol Evol 20:579–581.
- Schoener TW (2011) The newest synthesis: understanding the interplay of evolutionary and ecological dynamics. Science 331:426–429.
- Shackell NL, Frank KT, Fisher JA, et al (2010) Decline in top predator body size and changing climate alter trophic structure in an oceanic ecosystem. Proc R Soc B Biol Sci 277:1353–1360.
- Shaffer ML (1981) Minimum population sizes for species conservation. BioScience 31:131– 134.
- Sharpe DMT, Hendry AP (2009) SYNTHESIS: Life history change in commercially exploited fish stocks: an analysis of trends across studies. Evol Appl 2:260–275.

Sheridan JA, Bickford D (2011) Shrinking body size as an ecological response to climate

change. Nat Clim Change 1:401–406.

- Shima A, Mitani H (2004) Medaka as a research organism: past, present and future. Mech Dev 121:599–604.
- Smith FA, Lyons SK, Ernest SK, et al (2003) Body mass of late Quaternary mammals. Ecology 84:3403–3403.
- Spivakov M, Auer TO, Peravali R, et al (2014) Genomic and phenotypic characterization of a wild medaka population: towards the establishment of an isogenic population genetic resource in fish. G3 Genes Genomes Genet 4:433–445.
- Stamps JA (2007) Growth-mortality tradeoffs and "personality traits" in animals. Ecol Lett 10:355–363.
- Stearns SC (1989) Trade-Offs in Life-History Evolution. Funct Ecol 3:259–268.
- Stearns SC (1992) The evolution of life histories. Oxford University Press Oxford
- Stearns SC (1976) Life-history tactics: a review of the ideas. Q Rev Biol 3-47.
- Steffen W, Crutzen PJ, McNeill JR (2007) The Anthropocene: are humans now overwhelming the great forces of nature. AMBIO J Hum Environ 36:614–621.
- Stephens PA, Sutherland WJ, Freckleton RP (1999) What is the Allee effect? Oikos 185–190.
- Steppan SJ, Phillips PC, Houle D (2002) Comparative quantitative genetics: evolution of the G matrix. Trends Ecol Evol 17:320–327.
- Strong DR (1992) Are trophic cascades all wet? differentiation and donor-control in speciose ecosystems. Ecology 73:747–754.
- Strong DR, Frank KT (2010) Human involvement in food webs. Annu Rev Environ Resour 35:1–23.
- Sunday JM, Calosi P, Dupont S, et al (2014) Evolution in an acidifying ocean. Trends Ecol Evol 29:117–125.
- Svanbäck R, Eklöv P (2002) Effects of habitat and food resources on morphology and ontogenetic growth trajectories in perch. Oecologia 131:61–70.
- Takehana Y, Nagai N, Matsuda M, et al (2003) Geographic variation and diversity of the cytochrome b gene in Japanese wild populations of medaka, Oryzias latipes. Zoolog Sci 20:1279–1291.
- Takehana Y, Uchiyama S, Matsuda M, et al (2004) Geographic variation and diversity of the cytochrome b gene in wild populations of medaka (Oryzias latipes) from Korea and China. Zoolog Sci 21:483–491.
- Terao O (1985) Contribution to the study of the ecology of the medaka (Oryzias latipes), under natural conditions: life span, reproduction, food habits and its seasonal changes. Master

thesis. Tokyo.

- Tilman D (1982) Resource competition and community structure. Princeton University Press, Princeton
- Tilman D, Isbell F, Cowles JM (2014) Biodiversity and ecosystem functioning. Annu Rev Ecol Evol Syst 45:471.
- Tirard C, Barbault R, Abbadie L, Loeuille N (2012) Mini Manuel d'Ecologie. Dunod, Paris
- Trippel EA (1998) Egg size and viability and seasonal offspring production of young Atlantic cod. Trans Am Fish Soc 127:339–359.
- Uusi-Heikkilä S, Whiteley AR, Kuparinen A, et al (2015) The evolutionary legacy of sizeselective harvesting extends from genes to populations. Evol Appl 8:597–620.
- Van Allen BG, Dunham AE, Asquith CM, Rudolf VH (2012) Life history predicts risk of species decline in a stochastic world. Proc R Soc B Biol Sci 279:2691–2697.
- Van Buskirk J, Mulvihill RS, Leberman RC (2010) Declining body sizes in North American birds associated with climate change. Oikos 119:1047–1055.
- van Valen L (1973) Pattern and the balance of nature. Evol Theory 1:e49.
- van Wijk SJ, Taylor MI, Creer S, et al (2013) Experimental harvesting of fish populations drives genetically based shifts in body size and maturation. Front Ecol Environ 11:181–187.
- Vanni MJ (2002) Nutrient cycling by animals in freshwater ecosystems. Annu Rev Ecol Syst 341–370.
- Volterra V (1926) Fluctuations in the abundance of a species considered mathematically. Nature 118:558–560.
- Walsh MR, Munch SB, Chiba S, Conover DO (2006) Maladaptive changes in multiple traits caused by fishing: impediments to population recovery. Ecol Lett 9:142–148.
- Ward AJW, Hart PJB (2003) The effects of kin and familiarity on interactions between fish. Fish Fish 4:348–358.
- Welbergen P, van Dijken FR (1992) Asymmetric response to directional selection for licking behavior ofDrosophila melanogaster males. Behav Genet 22:113–124.
- Willi Y, van Buskirk J, Hoffmann AA (2006) Limits to the Adaptive Potential of Small Populations. Annu Rev Ecol Evol Syst 37:433–458.
- Wittbrodt J, Shima A, Schartl M (2002) Medaka-a model organism from the far East. Nat Rev Genet 3:53–64.
- Woodward G, Ebenman B, Emmerson M, et al (2005) Body size in ecological networks. Trends Ecol Evol 20:402–409.

World Wild Fundation (2014) Rapport Planète Vivante 2014.

Worm B, Barbier EB, Beaumont N, et al (2006) Impacts of biodiversity loss on ocean ecosystem services. science 314:787–790.

Yamamoto T (1975) Medaka (killifish): Biology and strains, Keigaku. Yugaku-sha, Tokyo

- Yoshida T, Jones LE, Ellner SP, et al (2003) Rapid evolution drives ecological dynamics in a predator–prey system. Nature 424:303–306.
- Young HG, Tonge SJ, Hume JP (1996) Review of Holocene wildfowl extinctions. Wildfowl 47:167–181.
- Zalasiewicz J, Williams M, Steffen W, Crutzen P (2010) The new world of the Anthropocene. Environ Sci Technol 44:2228–2231.
- Zimmermann F, Heino M, Steinshamn SI, Hilborn R (2011) Does size matter? A bioeconomic perspective on optimal harvesting when price is size-dependent. Can J Fish Aquat Sci 68:1651–1659.
- Zohar Y, Muñoz-Cueto JA, Elizur A, Kah O (2010) Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. Gen Comp Endocrinol 165:438–455.

## - Résumé -

## Réponse à la sélection taille-dépendante anthropique et ses conséquences écologiques. Approche expérimentale avec le médaka (Oryzias latipes)

La perte de biodiversité induite par les humains touche plus particulièrement les espèces de grande taille corporelle et génère des pressions de sélection contre les grands individus. Un nombre croissant d'études montrent que la diminution des abondances de ces espèces s'accompagne d'une évolution rapide vers des tailles corporelles réduites. La problématique générale de la thèse était d'étudier expérimentalement, de manière intégrée, « des gènes à l'écosystème », les implications évolutives et écologiques de la perte rapide de biodiversité. À l'aide d'une expérience de sélection artificielle sur la taille corporelle de médaka (Oryzias latipes) pendant 6 générations, j'ai montré que (1) un ensemble de traits d'histoire de vie corrélé génétiquement à la taille (e.g. croissance somatique, âge et taille à maturité sexuelle, fécondité) pouvaient évoluer rapidement, (2) la réponse des traits des médakas dépend de la direction de sélection, et que (3) les changements phénotypiques peuvent être reliés à des changements d'expressions d'hormones hypophysaires impliqués dans la régulation de la croissance (i.e. hormone de croissance) et la reproduction (i.e. hormone de croissance et gonadotropines). Ces résultats suggèrent que les mécanismes d'adaptations des populations aux pressions anthropiques pourraient fortement modifier des traits clés pour leur maintien dans les écosystèmes. Par ailleurs, dans une autre expérience, j'ai montré que les variations phénotypiques (taille et de forme d'un médaka), peuvent avoir autant d'importance sur l'intensité de la cascade trophique qu'elles génèrent, que les variations démographiques (présence-absence du médaka). Ce résultat révèle l'importance des traits des organismes dans l'écosystème et suggère que des changements micro-évolutifs pourraient se répercuter dans les réseaux d'interactions biotiques. Cette thèse souligne la nécessité de mieux comprendre les mécanismes adaptatifs afin d'appréhender au mieux les conséquences écologiques des pressions de sélection d'origine anthropique qui s'exercent sur les populations naturelles. Elle ouvre des perspectives sur la compréhension jointe des mécanismes évolutifs et écologiques qui peuvent agir en retour l'un sur l'autre dans des boucles de rétrocontrôle éco-évolutives.

Mots clés : perte de biodiversité, médaka (*Oryzias latipes*), taille corporelle, traits d'histoire de vie, sélection, adaptation, cascade trophique

## - Abstract -

## Anthropogenic size-selection response and ecological consequences. *Experimental approach with medaka (Oryzias latipes)*

Biodiversity loss induced by humans particularly affects species which large body size and generates selection pressures against large individuals. A growing number of studies show that the decline in abundance of these species is accompanied by a rapid shift towards smaller body sizes. The aim of the thesis was to study experimentally, in an integrative approach, "from genes to ecosystem," the evolutionary and ecological implications of the rapid loss of biodiversity. I applied an artificial selection on body size of medaka (Oryzias latipes) during 6 generations, and I showed that (1) a set of life history traits genetically correlated to the size (e.g. somatic growth, age and size at sexual maturity, fecundity) could evolve rapidly, (2) the response of medaka traits depend on the selection direction, and (3) the phenotypic changes can be related to changes of pituitary hormones expressions involved in the regulation of growth (i.e. growth hormone) and reproduction (i.e. growth hormone and gonadotropins). These results suggest that the adaptation mechanisms of populations to anthropogenic pressures could significantly alter key features for keeping them in ecosystems. Furthermore, in another experiment, I showed that phenotypic variations (size and shape of a medaka), may have as much importance on the intensity of the trophic cascade they generate, as demographic variations (presence-absence of medaka). This result shows the importance of the traits of organisms in the ecosystem and suggests that micro-evolutionary changes could propagate in biotic interaction webs. This thesis emphasizes the need to better understand the adaptive mechanisms in order to be able to predict ecological consequences of the anthropogenic selection pressures on natural populations. It opens perspectives on the joint understanding of evolutionary and ecological mechanisms that can act back on each other through eco-evolutionary feedback loops.

Key words : biodiversity loss, medaka (*Oryzias latipes*), body size, life history traits, selection, adaptation, trophic cascade