

ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA VIE ET DE LA SANTÉ

Institut Pluridisciplinaire Hubert Curien

THÈSE présentée par :

Laura CHARLANNE

Soutenue le 25 Octobre 2024

Pour obtenir le grade de **Docteur de l'Université de Strasbourg**

Discipline / Spécialité : Sciences de la vie / Ecologie-physiologie

**Adaptations physiologiques et comportementales des éléphants
de mer du sud (*Mirounga leonina*) face aux environnements et
événements extrêmes rencontrés tout au long de leur vie**

THÈSE dirigée par :

André ANCEL
Audrey BERGOUIGNAN

Chargé de Recherche, CNRS UMR 7178
Directrice de Recherche, CNRS UMR 7178

RAPPORTEURS :

Charles-André BOST
Cédric ZIMMER

Directeur de Recherche, CNRS UMR 7372
Maître de Conférence, Université Sorbonne Paris Nord UR 4443

EXAMINATEURS :

Caroline HABOLD
Sara LABROUSSE
Damien ROUSSEL

Directrice de Recherche, CNRS UMR 7178
Chargée de Recherche, CNRS UMR 7159
Professeur, Université de Lyon - CNRS UMR 5023

INVITÉE :

Caroline GILBERT (co-encadrement) Professeure, CNRS/MNHN UMR 7179

« La vie est belle comme un sourire d'éléphant de mer »
Popelephs et Manchologues 72

REMERCIEMENTS

Je souhaite tout d'abord remercier les membres du jury, Charles-André Bost, Cédric Zimmer, Caroline Habold, Sara Labrousse et Damien Roussel pour avoir accepté d'évaluer mon travail, malgré des emplois du temps que je sais être bien chargés.

Merci à toutes les personnes qui ont travaillé sur ce projet avec moi. Sandrine pour ces heures en PCR et ce superbe travail que tu as fait, Fabrice pour ton aide et tes conseils précieux sur les analyses protéomiques, Alexandre pour avoir fait ces analyses et pris le temps de m'expliquer en détail tout le déroulé, Isabelle pour m'avoir bien aidée dans les galères de kits, Alexandre pour toutes les distillations de deuterium, Laureline, Damien et Dom pour ce gros travail sur la mue, Anne-Laure au CRBS pour l'aide en respirométrie, et Baptiste pour la logistique des envois dans les TAAF.

Merci à tous les membres de mon comité de suivi individuel, Jean-Benoît Charrassin, Damien Roussel, Christophe Guinet, et Jean-Patrice Robin, pour votre soutien, vos suggestions et votre avis toujours positif sur mon travail. Merci Christophe pour la formation, la confiance, les échanges sur le terrain, et tout ce que tu nous as appris à Estacade.

Merci à toutes les personnes du DEPE, scientifiques ou non (Elisabeth, pour tes sourires tous les matins, ta gentillesse, et pour résoudre tous nos problèmes d'OM ou de Notilus ; on a beaucoup de chance de t'avoir !). Merci aux permanents avec qui j'ai pu parler science ou projet, pour les échanges très instructifs. Merci en particulier à JP pour l'aide pour les envois sur le terrain (et ton humour, tu nous manques), et à Josefa pour avoir pris le temps de discuter avec moi de la suite de mon projet. Merci beaucoup à Antoine pour toute l'aide sur la gestion Oroboros dans les TAAF, la formation dès mon arrivée, et pour l'aide la discussion des données jusqu'à quelques jours du rendu. Merci à tous les doctorants (et Hugo !) et post-docs que j'ai eu la chance de côtoyer pendant ces 3 années, qui ont été un vrai soutien, même ceux qui ont terminé il y a un an ; Anouch, Nico, Benjamin, (et Hugo !), mon bureau de cœur. Merci d'avoir été une constante depuis mon arrivée au DEPE et d'avoir continué à l'être après votre départ. Merci à ceux qui restent pour avoir continué à apporter du dynamisme, des soirées poutines et des randos roller ou à pied, Clément, Camille, Aude, Maëlle. Merci à Lilia pour la chouette personne que tu es, ton dynamisme et ton écoute. Merci aussi à Pauline pour ces quelques mois.

Enfin, même si tu n'étais pas au DEPE, merci à Anouk pour l'aide précieuse Oroboros avant, pendant et après le terrain, les tutos montage démontage et ce qu'on a partagé à côté.

Merci à tous mes amis d'un peu partout en France et d'ailleurs pour m'avoir soutenue dans ce gros travail, et m'avoir toujours gardé une place dans vos vies malgré de longs mois

d'absence, parce que le Grand Est c'est loin, mais Kerguelen l'était encore plus. Merci pour votre bienveillance et votre patience à mon retour. Tous les copains nantais, mais aussi Marine, Thomas et Evan, Max et Mélyss, Julie et Céline, pour l'accompagnement malgré la distance. Merci enfin à Lisa pour tout ce partage et ton soutien en fin de thèse.

Merci à mes deux missions de Kerguelen, 72 et 73, pour avoir fait de cette expérience de travail quelque chose d'aussi fort émotionnellement. Merci à mes popélephs 72 et 73 : Erwan, mon co-véto puis co-thésard fortuitement, pour ta sérénité sur le terrain, et pour nous avoir fait rencontrer Tyson. Antoine, Popéleph 72, pour ces pains spéciaux et toutes ces musiques de qualité en cabane. A Christophe et Jérôme pour cette première expérience en cabane. A Nathan, pour ton humour et tes expériences culinaires étranges. Enfin à Léa, pour avoir apporté la « Deutsche Qualität » cette deuxième année, pour ton enthousiasme pour les comportements de 6h du matin, la bouteille de gaz sur le traîneau, et pour être rapidement devenue une vraie amie. A vous trois pour le tube qu'a été l'Elephant seal love story et son clip. Merci à tous les vats de la 72, IPEV et Res'Nat, être partie et revenue avec vous c'était incroyable. Merci à Victor, Marion et Laurent pour l'aventure d'Armor. A Paul, le meilleur partenaire de cours de danse et de danse tout court, à Bernardo pour les imitations, Perrin pour les roulades, et Léna pour cette première session. A Keltoum pour le soutien qui continue encore. A Charly pour ton enthousiasme, ta gentillesse et tes photos magnifiques. A toute l'équipe militaire de la 72 et 73 pour cette grande famille. A Florence, pour ton aide pour les manipes, ton soutien, et pour avoir déclenché cette passion du macramé. Merci à Emmanuel et Alexis sur ce deuxième voyage, pour être devenu aussi rapidement des membres des popélephs, et pour continuer à faire partie de ma vie actuellement. A l'équipe des galettes, pour ces meetings réguliers, qui me donnent toujours l'impression d'être là-bas, et chez moi, quand je suis avec vous.

Merci à toute ma famille pour le soutien émotionnel face au travail, que je ne compte plus après quoi, ... 11-12 ans d'études ? Promis papa et maman, je travaille maintenant ! Merci de ne jamais douter de mes choix et de m'accompagner depuis toujours. A ma sœur adorée pour ton soutien, et à David pour ton écoute. Merci aussi à Quentin et Thierry pour la relecture de ce gros pavé et être venu en personne ! Merci à Maguy, Linette et Jacques pour votre accompagnement et votre enthousiasme depuis le début de ce projet. Merci à Tim pour les bivouacs, la cuisine expérimentale, les dessins qui tapissent mon appartement et cette thèse un peu aussi, et ce qu'on a partagé ces dernières années.

Enfin, merci aux personnes qui m'ont fait confiance pour travailler sur ce projet : Caroline, merci pour ton enthousiasme et tes commentaires toujours valorisants, pour avoir partagé ton expérience, et pour ta bienveillance et ta réactivité en cas d'urgence, même sur le terrain, où tu as toujours eu les bons mots.

Audrey, merci pour les coups de boost que chacun de nos échanges m'ont apporté, et d'avoir toujours pris le temps pour apporter un regard critique sur ce travail, avec bienveillance.

Et pour finir, André. Tout d'abord pour avoir relu cette thèse un nombre déraisonnable de fois, encore plus que moi ! Ensuite, j'ai toujours dit que pour me sentir bien, j'avais besoin de travailler avec une personne « émotionnellement présente ». Tu as rempli ce rôle à merveille. Tu m'as cernée extrêmement vite, et tu as su sentir à trois fois rien, un mail, une attitude, quand ça n'allait pas. Et tu as toujours ouvert ta porte pour que je puisse venir discuter, professionnellement ou personnellement. T'avoir au quotidien au labo a largement contribué à ce que je m'épanouisse pleinement pendant ces trois années. Pour reprendre tes mots d'il y a quelques mois, moi aussi je t'aime beaucoup, oui, on forme une super équipe, et je suis très fière d'être ta dernière thésarde. Merci pour tout.

Comment clore ces remerciements sans remercier les éléphants de mer. Pensée particulière à Tyson et ses 800 kg de 2021 qui doivent régner sur le plus gros harem de Kerguelen chaque fin d'hiver. Au pups qui a jeté du sable sur Nathan qui me fait encore rire aujourd'hui. A Snowflakes. Peu importe que les gens vous trouvent patauds, disent que vous puez (c'est faux, ce sont les souilles qui puent), vous êtes le modèle d'étude le plus incroyable du monde !



STRUCTURE GÉNÉRALE DE LA THESE

REMERCIEMENTS	3
STRUCTURE GÉNÉRALE DE LA THESE	7
LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	9
AUTRES CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES ET PÉDAGOGIQUES	13
SOMMAIRE DÉTAILLÉ	17
LISTES DES TABLES.....	22
LISTE DES FIGURES.....	23
LISTE DES ENCADRÉS ET ESSENTIELS.....	25
GLOSSAIRE	26
SYNOPSIS	27
INTRODUCTION GÉNÉRALE	29
MÉTHODOLOGIE	91
CHAPITRE 1 : ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES ET COMPORTEMENTALES DES ADULTES ÉLÉPHANTS DE MER DU SUD FACE AUX CONTRAINTES ÉNERGETIQUES ET ENVIRONNEMENTALES PENDANT UN ÉVÉNEMENT COÛTEUX, LA MUE	111
CHAPITRE 2 : ADAPTATIONS COMPORTEMENTALES DES JUVÉNILES ÉLÉPHANTS DE MER DU SUD FACE AUX CONTRAINTES PHYSIOLOGIQUES ET ENVIRONNEMENTALES PENDANT UNE PÉRIODE COÛTEUSE EN ENVIRONNEMENT CHANGEANT, LE POST-SEVRAGE	141
CHAPITRE 3 : ONTOGENÈSE DES ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES AUX PLONGÉES EXTRÊMES ET CONDITIONNEMENT CHEZ LES JUVÉNILES EN POST-SEVRAGE.....	163
DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION.....	195
ANNEXES.....	225
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	263

LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

I. Liste des publications passées et en cours

Charlanne, L. M. et al. In prep. Plasticity to balance immaturity? The role of phenotypic plasticity to survive a changing period and environment in juveniles. *Biological reviews*

Charlanne, L. M. et al. In prep. Meteorological and physiological factors impacting juveniles' training during the preconditioning post-weaning period of an extreme diver, the southern elephant seal. *J Exp Biol*

Le Nabec Q., Piot E., **Charlanne L. et al.** In review. Sub-fat temperature variations and heart rate adjustments in the southern elephant seal *Mirounga leonina* as a function of dive duration, depth, and water temperature. *J Exp Biol*

Charlanne, L. M. et al. In review. Ready to dive? Early preconditioning to aquatic life in an air-breathing mammal, the southern elephant seal *Mirounga leonina*. *J Exp Biol*

Charlanne, L. M. et al. Extreme Fieldwork: Flame-sealed Capillaries versus Frozen Serums to Estimate Body Composition of Southern Elephant Seals (*Mirounga leonina*) using Isotopic Dilution. *Polar Biology* (2024). <https://doi.org/10.1007/s00300-024-03301-5>

Piot, E., Hippauf, L., **Charlanne, L. M.** et al. From land to ocean: one month for southern elephant seal pups to acquire aquatic skills prior to their first departure to sea. *J Exp Biol* (2024). <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2024.114525>

Charlanne, L. M. et al. Breaking the fast: first report of dives and ingestion events in molting southern elephant seals. *Commun Biol* 7, 1–12 (2024). <https://doi.org/10.1038/s42003-023-05720-2>

Charlanne, L. M. et al. Sticking Together: Energetic Consequences of Huddling Behavior in Hibernating Juvenile Garden Dormice. <https://doi.org/10.1086/721184>

II. Liste des conférences scientifiques

20^{èmes} journées du Comité National Français des Recherches Arctiques et Antarctiques (CNFRAA) à Strasbourg

Mai 2024

Présentation orale : Parés à plonger ? Pré-conditionnement à la vie aquatique au cours du post-sevrage d'un mammifère plongeur, l'éléphant de mer du sud *Mirounga leonina*.

The Elephant and Weddell Seals Symposium à Chizé

Avril 2024

Présentation orale : Ready to dive? Early preconditioning to aquatic life in an air-breathing mammal, the southern elephant seal *Mirounga leonina*.

8th International Bio-Logging Science Symposium à Tokyo

Mars 2024

Présentation orale : What happens on land? First report of at-sea movement and ingestions in molting southern elephant seals.

6^{ème} Colloque d'Ecophysiologie et Physiologie Animale à Tours

Novembre 2023

Présentation orale : Premières preuves de plongées et d'ingestions chez l'éléphant de mer du sud en mue.

19^{èmes} journées du Comité National Français des Recherches Arctiques et Antarctiques (CNFRAA) à Paris

Mai 2023

Présentation orale : Premières preuves de plongées et d'ingestions chez l'éléphant de mer du sud pendant la mue.

Lauréate prix Roland Schlich pour la qualité et pédagogie de la présentation.

ED School Days à Strasbourg

Avril 2023

Présentation orale : First report of at-sea movement and ingestions in molting southern elephant seals.

AUTRES CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES ET PÉDAGOGIQUES

I. Communications de vulgarisation scientifique

A. Articles de vulgarisation scientifique dans une revue naturaliste – Scientia Naturalis

Depuis 2021, je suis membre du comité d'édition de la revue naturaliste bénévole Scientia Naturalis. Je suis impliquée dans les choix des thématiques, la rédaction d'articles de vulgarisation, et la relecture des articles publiés.

Charlanne, L.M. (2024). Le sexe, une pression de sélection : stratégies et enjeux dans la course à la séduction ! *Sexe et Sexualité, Scientia Naturalis, n° spécial, 113 p.. ISSN 2803-5658.*

Charlanne, L.M. (2024). Est-ce qu'à deux c'est mieux ? Les différents systèmes d'appariement et leurs implications. *Sexe et Sexualité, Scientia Naturalis, n° spécial, 113 p.. ISSN 2803-5658.*

Charlanne, L.M. (2023). Intérêt scientifique et pédagogique de la recherche fondamentale en milieu naturel, exemple de l'étude des Éléphants de mer du Sud. *De la recherche à l'enseignement des sciences naturelles, Scientia Naturalis, n° 5, 57.*

Charlanne, L.M. & Force, E. Éditorial (2021). *Des sciences naturelles au quotidien, Scientia Naturalis, n° spécial, 80 p.*

Charlanne, L.M. & Force, E. (2021). Le vivant comme source d'inspiration ou biomimétisme. *Des sciences naturelles au quotidien, Scientia Naturalis, n° spécial, 80 p.*

Charlanne, L.M. (2021). La domestication, un processus naturel qui nous accompagne au quotidien. *Des sciences naturelles au quotidien, Scientia Naturalis, n° spécial, 80 p.*

Charlanne, L.M. (2021). 20 000 lieues sous les mers, ces Mammifères qui ne manquent pas d'air. *Les sources hydrothermales : entre écosystème unique et métaux précieux, Scientia Naturalis, n° 3, 94 p. ISSN 2803-5658.*

B. Communications orales et conférences

Interview sur l'article scientifique "Breaking the fast" – Polar Journal

Janvier 2024

Interview pour un article dans un journal d'actualité sur les environnements polaires

<https://polarjournal.ch/fr/2024/01/15/en-mue-les-elephants-du-mer-du-sud-jeunent-ils-vraiment/>

Conférence d'ouverture des Olympiades nationales des Sciences naturelles – Université de Strasbourg

12 juin 2024

Conférence sur mon projet de recherche et mes résultats principaux dans le cadre de l'ouverture des Olympiades en sciences naturelles.

Participation à la Fête de la Science

Septembre 2021

Présentation des travaux menés dans les Terres Australes et Antarctiques Françaises, sensibilisation aux problématiques de biodiversité et changements climatiques en région polaire.

II. Enseignement

Monitorat à l'Université de Strasbourg

Pendant deux années, j'ai été monitrice en travaux pratiques « Phylogénie et Anatomie des Métazoaires » à l'Université de Strasbourg, en licence 2 (64h EQTD/an).

Intervenante en classe préparatoire pour l'agrégation de biologie - géologie à l'Université de Strasbourg

J'ai contribué à la préparation au concours de l'agrégation en intervenant en classe préparatoire SV-STU à l'Université de Strasbourg, pour la préparation aux oraux (biologie animale, végétale, écologie, évolution). J'ai composé les sujets d'option sur lesquels j'interrogeais (conception des documents imposés), et proposé une correction après évaluation de l'étudiant concerné.

Encadrement de stagiaire

J'ai contribué à l'encadrement de Camille Marie-Jean-Robert Jot en 2023, au cours de son stage de M2 sur le sujet « Coûts et bénéfices énergétiques chez les mammifères hibernants : application à l'exemple du grand hamster d'Alsace (*Cricetus cricetus*) », avec Caroline Hibold, Audrey Bergouignan, André Ancel et Caroline Gilbert. J'ai formé Camille à la méthode de respirométrie haute résolution, contribué aux analyses statistiques ainsi qu'à la relecture de son manuscrit de mémoire et de thèse vétérinaire.

III. Contribution au travail de thèse : conception, collecte de données, laboratoire et analyses

Au cours de ce projet de thèse, j'ai participé à deux sessions de collecte de données de cinq et six mois dans l'Archipel des Kerguelen (Octobre 2021 – Février 2022 puis Août 2022 – Janvier 2023). Pendant la première session, j'ai contribué à collecter les données du Chapitre 1 (mjuin 2022). En amont de la deuxième session, j'ai conçu le protocole du Chapitre 3 et de l'Annexe 2, géré la logistique ainsi que les envois de matériel. J'ai réalisé les chirurgies et les

analyses sur le terrain (Oroboros) du Chapitre 3, ainsi que l'équipement des individus du Chapitre 2 et de l'Annexe 2).

Au DEPE, IPHC UMR 7178, Strasbourg, j'ai réalisé les analyses en laboratoire du Chapitre 3 (mesures du stress oxydant, extractions d'ARN et de protéines). Pour cette même étude, j'ai assisté S. Zahn dans la réalisation des RT-PCR et contacté le DSA, IPHC UMR 7178 pour une collaboration et qu'ils se chargent de l'étude protéomique (spectrométrie de masse). J'ai réalisé les distillations pour la méthode de dilution isotopique (Chapitre 2 et Annexe 2) et A. Zahariev s'est chargé des mesures au spectromètre de masse.

J'ai réalisé toutes les analyses statistiques réalisées sur le logiciel R décrites dans ce travail. L. Chaise et D. Sornette se sont chargés d'écrire l'algorithme du Chapitre 1 et E. Piot de celui du Chapitre 2, sur le logiciel Python.

IV. Autres contributions

Membre du bureau pour l'organisation du colloque Ecology and Behavior à Strasbourg

Mars 2022

J'ai participé à l'organisation du colloque Ecology and Behavior à Strasbourg du 21 au 24 mars 2022. J'ai contribué au choix des thématiques et à la sélection des intervenants en amont, puis à la logistique pendant le déroulé du colloque.

SOMMAIRE DÉTAILLÉ

REMERCIEMENTS	3
STRUCTURE GÉNÉRALE DE LA THESE	7
LISTE DES PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS	9
I. LISTE DES PUBLICATIONS PASSEES ET EN COURS	9
II. LISTE DES CONFERENCES SCIENTIFIQUES	10
AUTRES CONTRIBUTIONS SCIENTIFIQUES ET PÉDAGOGIQUES	13
I. COMMUNICATIONS DE VULGARISATION SCIENTIFIQUE	13
A. <i>Articles de vulgarisation scientifique dans une revue naturaliste – Scientia Naturalis</i>	13
B. <i>Communications orales et conférences</i>	14
<i>Interview sur l'article scientifique "Breaking the fast" – Polar Journal Janvier 2024</i>	14
II. ENSEIGNEMENT	15
III. CONTRIBUTION AU TRAVAIL DE THESE : CONCEPTION, COLLECTE DE DONNEES, LABORATOIRE ET ANALYSES	15
IV. AUTRES CONTRIBUTIONS	16
SOMMAIRE DÉTAILLÉ	17
LISTES DES TABLES	22
LISTE DES FIGURES	23
LISTE DES ENCADRÉS ET ESSENTIELS	25
I. LISTE DES ENCADRES	25
II. LISTE DES ESSENTIELS	25
GLOSSAIRE	26
SYNOPSIS	27
INTRODUCTION GÉNÉRALE	29
I. VARIATIONS ENVIRONNEMENTALES ET CONTRAINTES POUR LES ORGANISMES A DIFFERENTES ECHELLES	30
A. <i>L'environnement comme milieu de vie des organismes</i>	30
B. <i>Fluctuations de l'environnement et contraintes pour les organismes</i>	30
a. Variations spatiales des conditions environnementales	31
b. Variations temporelles de l'environnement	31
c. Changement climatique et variabilité spatiale	33
C. <i>Milieus extrêmes, définitions et implications</i>	37
a. Qu'est-ce qu'un milieu extrême ?	37
b. Expérience et variabilité des environnements extrêmes	39
II. ADAPTATIONS DES ORGANISMES A LEUR ENVIRONNEMENT ET AUX DIFFERENTS EVENEMENTS DE LEUR CYCLE DE VIE	40
A. <i>Pourquoi des adaptations ?</i>	40
a. Mise en évidence du phénomène d'adaptation	40
b. Les concepts d'adaptation, acclimatation, et variabilité individuelle	41
c. Définition des événements extrêmes	43
B. <i>Adaptations aux événements et environnements extrêmes : exemple des alternances milieu marin et milieu terrestre</i>	44
a. Adaptations au milieu marin, milieu hypoxique de recherche alimentaire	44
b. S'émerger : exposition à un milieu changeant et pauvre en ressources	52
III. ENJEUX, CONTRAINTES ET ADAPTATIONS SPECIFIQUES DU STADE JUVENILE	58
A. <i>Stade juvénile : un stade critique mais à l'enjeu évolutif déterminant</i>	58
a. Les juvéniles assurent le maintien de l'espèce par leur survie et leur reproduction	58
b. Les conditions du début de vie conditionnent les futures réponses aux contraintes	59
c. La période juvénile est une période vulnérable aux nombreux défis	60

B.	<i>Adaptations spécifiques et plasticité des juvéniles face aux environnements et événements extrêmes</i>	63
a.	Adaptations spécifiques des juvéniles aux événements et environnements extrêmes	63
b.	Importance de la flexibilité et de la plasticité phénotypique des juvéniles face aux fluctuations environnementales	68
IV.	LES ELEPHANTS DE MER DU SUD, UNE ESPECE MODELE DE CHOIX	72
A.	<i>Biologie générale</i>	72
a.	Répartition mondiale et état des populations	73
b.	Vision générale du cycle de vie	73
B.	<i>Des plongeurs extrêmes</i>	76
a.	Des phases de recherche alimentaire en présence d'une quantité limitée d'oxygène	76
b.	Des phases en surface à l'origine d'une ischémie de reperfusion et de production de stress oxydant	77
C.	<i>Des phases à terre aux contraintes énergétiques importantes</i>	77
a.	Période de reproduction	77
b.	Période de mue	78
c.	Contraintes de l'émersion en lien avec le milieu	80
D.	<i>Cas des juvéniles</i>	81
V.	CONTEXTE ET OBJECTIFS DE LA THESE	84
A.	<i>Questions et hypothèses</i>	84
B.	<i>Organisation de la thèse</i>	84
	MÉTHODOLOGIE	91
I.	COLLECTE DES DONNEES	92
II.	SUIVI COMPORTEMENTAL DES ANIMAUX	93
A.	<i>Sédation et équipement</i>	93
B.	<i>Suivi des mouvements des animaux</i>	94
C.	<i>Analyse du comportement d'ingestion</i>	95
a.	Déploiement des enregistreurs	95
b.	Analyse des données de température	95
D.	<i>Estimation de l'activité des animaux</i>	95
a.	Déploiement des accéléromètres	95
b.	Détermination du budget d'activité	95
c.	Déduction des mises à l'eau et du comportement de nage	96
III.	SUIVI PHYSIOLOGIQUE DES ANIMAUX	96
A.	<i>Mesure de l'état corporel</i>	96
a.	Pesée et mesures des individus	96
b.	Méthode de la dilution isotopique	98
B.	<i>Détermination du stade de mue</i>	100
C.	<i>Étude fonctionnelle d'un muscle de nage</i>	100
a.	Principe de la respirométrie haute résolution sur fibres musculaires	100
b.	Prélèvement et préparation des fibres musculaires	101
c.	Protocoles mis en place et indicateurs calculés	103
D.	<i>Étude moléculaire d'un muscle de nage</i>	107
a.	Extraction d'ARN et de protéines	107
b.	Étude protéomique par spectrométrie de masse	107
c.	Expression de gènes par RT-PCR	108
E.	<i>Quantification des dommages oxydatifs</i>	108
IV.	DONNEES ENVIRONNEMENTALES	109
V.	ANALYSES STATISTIQUES	109
VI.	RECAPITULATIF DES METHODES UTILISEES PAR ETUDE	110
	CHAPITRE 1 : ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES ET COMPORTEMENTALES DES ADULTES ÉLÉPHANTS DE MER DU SUD FACE AUX CONTRAINTES ÉNERGETIQUES ET ENVIRONNEMENTALES PENDANT UN ÉVÉNEMENT COÛTEUX, LA MUE	111
I.	INTRODUCTION	112
II.	RESUME EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE 1	112
III.	ARTICLE 1 : BREAKING THE FAST: FIRST REPORT OF DIVES AND INGESTION EVENTS IN MOLTING SOUTHERN ELEPHANT SEALS	114
A.	<i>Abstract</i>	115

B.	<i>Introduction</i>	115
C.	<i>Results</i>	117
a.	Diving and surface swimming behavior	118
b.	Stomach temperature.....	119
c.	Determinants of female SES behavior	121
d.	Consequences on female SES condition	123
D.	<i>Discussion</i>	125
E.	<i>Methods</i>	131
a.	Data collection and analysis.....	131
b.	Diving pattern analysis.....	133
c.	Stomach temperature analysis	135
d.	Statistics and Reproducibility.....	137
F.	<i>Acknowledgements</i>	139

CHAPITRE 2 : ADAPTATIONS COMPORTEMENTALES DES JUVÉNILES ÉLÉPHANTS DE MER DU SUD FACE AUX CONTRAINTES PHYSIOLOGIQUES ET ENVIRONNEMENTALES PENDANT UNE PÉRIODE COÛTEUSE EN ENVIRONNEMENT CHANGEANT, LE POST-SEVRAGE141

I.	INTRODUCTION	142
II.	RESUME EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE 2.....	143
III.	ARTICLE 2 : METEOROLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL FACTORS IMPACTING JUVENILES' TRAINING DURING THE PRECONDITIONING POST-WEANING PERIOD OF AN EXTREME DIVER, THE SOUTHERN ELEPHANT SEAL	144
A.	<i>Abstract</i>	145
B.	<i>Introduction</i>	145
C.	<i>Methods</i>	147
a.	Study site and animals	147
b.	Isotope dilution.....	148
c.	Blood sample analysis :	148
d.	Body composition	148
e.	Swimming activity and at-sea events.....	149
f.	Meteorological data.....	150
g.	Statistical analysis	150
D.	<i>Results</i>	151
a.	Body composition at weaning.....	151
b.	Active swimming behavior vs non-swimming at-sea events.....	152
c.	Determinant of juvenile SES' behavior	154
E.	<i>Discussion</i>	156
F.	<i>Conclusion</i>	160
G.	<i>Acknowledgements and funding</i>	160

CHAPITRE 3 : ONTOGENÈSE DES ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES AUX PLONGÉES EXTRÊMES ET CONDITIONNEMENT CHEZ LES JUVÉNILES EN POST-SEVRAGE.....163

I.	INTRODUCTION	164
II.	RESUME EN FRANÇAIS DE L'ARTICLE 3.....	164
III.	ARTICLE 3 : READY TO DIVE? EARLY PRECONDITIONING TO AQUATIC LIFE IN AN AIR-BREATHING MAMMAL, THE SOUTHERN ELEPHANT SEAL <i>MIROUNGA LEONINA</i>	166
A.	<i>Abstract</i>	167
B.	<i>Introduction</i>	167
C.	<i>Methods</i>	170
a.	Data collection and analysis.....	170
b.	High-resolution respirometry	171
c.	Protein and RNA extraction	174
d.	Protein levels – quantitative mass spectrometry-based analysis	174
e.	Gene expression – real-time reverse-transcription PCR	176
f.	Plasma measurements.....	177
g.	Statistical analysis	177
D.	<i>Results</i>	178
a.	High-resolution respirometry	178
b.	LC-MS/MS	179
c.	Gene expression	183
d.	Oxidative damages.....	183

E.	<i>Discussion</i>	184
F.	<i>List of abbreviations</i>	190
G.	<i>Acknowledgements and funding</i>	190
DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION		195
I.	INTRODUCTION GENERALE ET RESULTATS DE LA THESE	196
II.	VARIABILITE DES ADAPTATIONS VISANT A EQUILIBRER LES DEPENSES FACE AU COMPROMIS ENERGETIQUE DE L'EVENTEMENT EN COURS	198
A.	<i>Adaptations physiologiques et comportementales rapportées permettant d'équilibrer les dépenses énergétiques à terre</i>	198
B.	<i>La condition corporelle occupe une place centrale dans la variabilité des réponses observées</i>	199
a.	La condition corporelle : moteur et cible des adaptations	199
b.	Deux stratégies à terre ? Compromis entre durée de l'événement et condition corporelle, perspectives	200
c.	Difficultés de mesure de la condition corporelle en milieu naturel.....	202
C.	<i>Prise en compte des variations environnementales et de l'effet sur la balance énergétique</i>	204
III.	CONDITIONNEMENT A TERRE : MISE EN PLACE DES ADAPTATIONS AUX EVENEMENTS A VENIR	206
A.	<i>Les stress physiologiques à terre stimulent les adaptations long terme</i>	206
a.	Stress et adaptations musculaires	206
b.	Mise en place des adaptations systémiques pendant le post-sevrage	208
c.	Perspectives sur la récurrence des phases en émergence et des stress physiologiques	212
IV.	PERSPECTIVES D'ETUDES LONG TERME DE LA VARIABILITE INDIVIDUELLE DANS L'EXPRESSION DES ADAPTATIONS	214
A.	<i>Effet à long terme des conditions de début de vie sur les adaptations exprimées</i>	214
a.	Effet des contraintes précoces sur la condition des juvéniles	215
b.	Effet sur les adaptations exprimées plus tardivement.....	216
B.	<i>Phénologie des périodes en émergence et effet sur l'événement suivant</i>	218
V.	CONCLUSION	222
ANNEXES		225
I.	ANNEXE 1 : PLASTICITY TO BALANCE IMMATURETY?: THE ROLE OF PHENOTYPIC PLASTICITY TO SURVIVE A CHANGING PERIOD AND ENVIRONMENT IN JUVENILES	226
	<i>In prep, Biological Review</i>	226
	<i>Abstract</i>	227
A.	<i>Introduction</i>	227
B.	<i>Juveniles is a key but challenging stage of life</i>	229
a.	Juveniles ensure sustainability of species by surviving and reproducing.....	229
b.	Juvenile period is a vulnerable, hence challenging stage of life.....	230
C.	<i>Adaptive strategies for juveniles to survive in seasonal and fluctuating environments</i>	232
a.	Tradeoffs between different physiological functions	232
b.	Progressive exposure to the challenges.....	235
c.	The use of energy-saving strategies.....	237
D.	<i>Importance of phenotypic plasticity for juveniles to survive environmental fluctuations</i>	242
a.	Phenotypic plasticity and trade off in energy expenditure	242
b.	Maximizing the flexible use of energy-saving strategies.....	243
E.	<i>Early life conditions and implications later in life</i>	244
F.	<i>Conclusion</i>	246
II.	ANNEXE 2 : EXTREME FIELDWORK: FLAME-SEALED CAPILLARIES VERSUS FROZEN SERUMS TO ESTIMATE BODY COMPOSITION OF SOUTHERN ELEPHANT SEALS (<i>MIROUNGA LEONINA</i>) USING ISOTOPIC DILUTION.....	247
A.	<i>Abstract</i>	248
B.	<i>Introduction</i>	248
C.	<i>Methods</i>	251
a.	Animals	251
b.	Data Collection and Analysis	251
c.	Isotope Techniques.....	251
d.	Blood Sample Collection	252
e.	Blood Sample Preparation and Analysis	253
f.	Statistical Analysis.....	254
D.	<i>Results</i>	255
a.	Animals	255
b.	Sample Quality	255

c.	Total Body Water and Storage Conditions	257
d.	Equilibration time	258
E.	<i>Discussion</i>	259
F.	<i>Ethics declarations</i>	262
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES		263

LISTES DES TABLES

TABLE 1: EVOLUTION DE LA TEMPERATURE AMBIANTE MOYENNE AU COURS DES 50 DERNIERE ANNEES, ET TENDANCES A LONG TERME DANS QUELQUES STATIONS SUBANTARCTIQUES.	36
TABLE 2 : QUANTITE D'OXYGENE STOCKEE ET PARAMETRES DETERMINANTS CHEZ DIFFERENTS MAMMIFERES ET OISEAUX MARINS EN COMPARAISON AVEC UN MAMMIFERE TERRESTRE.....	45
TABLE 3 : RESUME DES ANNEES ET SITES DE COLLECTE DE DONNEES POUR CHAQUE ETUDE.....	93
TABLE 4 : PROTOCOLES APPLIQUES (A AND B) ET STADE DE RESPIRATION ASSOCIES DANS LE CADRE DE L'ETUDE FONCTIONNELLE D'UN MUSCLE DE NAGE CHEZ L'ELEPHANT DE MER DU SUD.	104
TABLE 5 : SUMMARY OF DIVING PARAMETERS FROM 31 FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS DURING THE MOLT.....	119
TABLE 6: SUMMARY OF INGESTION EVENT VARIABLES FROM 31 FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS MONITORED BETWEEN 2014 AND 2022 (N = 87 EVENTS).	120
TABLE 7 : SUMMARY OF INGESTION TYPE BASED ON KUHN AND COSTA (2006) RESULTS, FROM 31 FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS MONITORED BETWEEN 2014 AND 2022 (N = 87 EVENTS).	120
TABLE 8: BEST MODELS TO EXPLAIN FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS SWIMMING SCORE VARIABILITY	121
TABLE 9: BEST MODELS TO EXPLAIN FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS INGESTION BEHAVIOR VARIABILITY	122
TABLE 10: SUMMARY OF COEFFICIENTS AND GOODNESS-OF-FIT INDICES FROM THE BEST MODELS FOR ENVIRONMENTAL CONDITIONS EFFECT ON FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS BEHAVIOR.....	122
TABLE 11: ANOVA TABLE OF THE BEST LINEAR MIXED EFFECT MODELS FOR FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS CONDITION AT THE END OF THE MOLTING PERIOD.	124
TABLE 12: FILTERS APPLIED TO DISTINGUISH BETWEEN ACTIVE SWIMMING AND RESPONSE TO THERMAL STRESS IN JUVENILE SES DURING THE POST-WEANING PERIOD.	150
TABLE 13: PHYSIOLOGICAL PARAMETERS RECORDED AT WEANING FOR EACH PUP FEMALE SES INCLUDED IN OUR STUDY IN 2022 (N=6).	152
TABLE 14 : SUMMARY OF COEFFICIENTS AND GOODNESS-OF-FIT INDICES FROM THE BEST MODELS FOR ENVIRONMENTAL AND PHYSIOLOGICAL CONDITIONS EFFECT ON JUVENILE FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS BEHAVIOR.	154
TABLE 15: HIGH-RESOLUTION RESPIROMETRY PROTOCOLS (A AND B) AND ASSOCIATED RESPIRATORY STATES FOR MUSCLE FIBER MITOCHONDRIAL RESPIRATION EXPERIMENTS.	173
TABLE 16 : SEQUENCE OF THE OLIGONUCLEOTIDE PRIMERS USED IN REAL TIME RT-QPCR.	177
TABLE 17: GENE EXPRESSION IN JUVENILE (N=5) AND ADULT (N=6) FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS.	183
TABLE 18 : RESUME DES RESULTATS PRINCIPAUX A L'ISSU DES 3 CHAPITRES DE CE TRAVAIL.....	197
TABLE 19 : RAPPEL DES PRINCIPAUX RESULTATS DE CE TRAVAIL DE THESE SPECIFIQUEMENT EN LIEN AVEC LA BALANCE ENERGETIQUE DES ELEPHANTS DE MER DU SUD	198
TABLE 20 : DETAILS RELATED TO SAMPLE COLLECTION, INCLUDING THE NUMBER OF LOST MEASURES AND REASONS FOR MEASURE LOSS.	256

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : SAISONNALITE DANS LA REPARTITION DE LA CHLOROPHYLLE A AU NIVEAU DE L’OCEAN AUSTRAL.....	32
FIGURE 2 : EFFET DE LA TEMPETE DE NOVEMBRE 2018 SUR LE COMPORTEMENT DE RECHERCHE ALIMENTAIRE DES MANCHOTS PYGMEES	33
FIGURE 3 : AUGMENTATION DE LA FREQUENCE DE CHANGEMENTS EXTREMES DU NIVEAU DE LA MER D’ICI 2040.....	34
FIGURE 4 : CHANGEMENTS ATTENDUS DANS LA DISTRIBUTION VERTICALE ET L’ABONDANCE DES PROIES MESOPELAGIQUES DANS LA ZONE ANTARCTIQUE ENTRE 2019 ET 2100.	37
FIGURE 5 : PROFILS DE TEMPERATURE (A) ; SALINITE (B) ET CONCENTRATION EN OXYGENE DISSOUT (C) ET VARIATIONS SAISONNIERES SUR UN TRANSECT SITUE AU LARGE DU CENTRE DU PEROU (CALLAO – 12°S). (IGARZA ET AL. 2019).....	38
FIGURE 6 : RELATION THEORIQUE ENTRE VARIABLE ENVIRONNEMENTALE, TRAIT PHYSIOLOGIQUE OU COMPORTEMENTAL, ET VALEUR SELECTIVE.....	43
FIGURE 7 : QUANTITE D’OXYGENE STOCKEE ET REPARTITION DANS LES DIFFERENTS COMPARTIMENTS CHEZ MAMMIFERES ET OISEAUX MARINS, EN COMPARAISON AVEC L’HOMME.....	46
FIGURE 8 : SCHEMATISATION SIMPLIFIEE DES GRANDES FONCTIONS MITOCHONDRIALES ET PRODUCTION DE ROS.....	48
FIGURE 9 : FORMATION DES ESPECES REACTIVES DE L’OXYGENE.	50
FIGURE 10 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA RELATION ENTRE LA TEMPERATURE AMBIANTE ET LE METABOLISME DE REPOS CHEZ UN PHOCIDE ANTARCTIQUE OU SUBANTARCTIQUE.	53
FIGURE 11 : CHANGEMENT DE PRISE DE MASSE CORPORELLE ENTRE DES JEUNES LEROTS D’EUROPE SELON LEUR DATE DE NAISSANCE.	64
FIGURE 12 : STIMULATION DES REPONSES ADAPTATIVES A L’HYPOXIE ET AU STRESS OXYDANT APRES L’EXPOSITION A PLUSIEURS APNEES CHEZ DE JEUNES ELEPHANTS DE MER DU NORD.....	65
FIGURE 13 : EVOLUTION DES PARAMETRES DE PLONGEES AU COURS DU PREMIER VOYAGE EN MER DE JEUNES MANCHOTS ROYAUX... ..	67
FIGURE 14 : CHANGEMENT HEBDOMADAIRE DANS L’ACTIVITE DE JEUNES ELEPHANTS DE MER DU SUD FEMELLES AU COURS DU POST-SEVRAGE.	69
FIGURE 15 : REPARTITION MONDIALE DES ELEPHANTS DE MER DU NORD (<i>MIROUNGA ANGUSTIROSTRIS</i> , VERT) ET DU SUD (<i>MIROUNGA LEONINA</i> , MARRON).	72
FIGURE 16 : PHOTOGRAPHIES DES HAREMS ET D’UN JUVENILE JUSTE NE SUR LA PLAGES D’ESTACADE, ILES KERGUELEN.	78
FIGURE 17 : JEUNES MALES ELEPHANTS DE MER EN MUE SUR LE SITE D’ESTACADE, ILES KERGUELEN	79
FIGURE 18 : CYCLE DE VIE D’UN ELEPHANT DE MER DU SUD ADULTE MALE OU FEMELLE	80
FIGURE 19 : CYCLE DE VIE D’UN ELEPHANT DE MER DU SUD JUVENILE.....	82
FIGURE 20 : BALANCE ENERGETIQUE AU COURS DE LA MUE CHEZ LES ELEPHANTS DE MER DU SUD.....	85
FIGURE 21 : BALANCE ENERGETIQUE AU COURS DE LA PERIODE DE POST-SEVRAGE CHEZ LES JEUNES ELEPHANTS DE MER DU SUD	86
FIGURE 22 : BALANCE ENERGETIQUE AU COURS DE LA PERIODE DE POST-SEVRAGE CHEZ LES JEUNES ELEPHANTS DE MER DU SUD ET IMPLICATIONS DANS L’ONTOGENESE DES ADAPTATIONS AUX STRESS PHYSIOLOGIQUES ASSOCIES AUX HYPOXIE REPETEES.....	87
FIGURE 23 : CARTE DE KERGUELEN SITUANT PORT-AUX-FRANÇAIS (49°34’S, 70°21’E), POINTE SUZANNE (49°26’S, 70°26’E) ET ESTACADE (49°16’S, 70°32’E).....	92
FIGURE 24 : MESURE DES CIRCONFERENCES SUR UN ELEPHANT DE MER DU SUD.....	97
FIGURE 25 : PESEE D’UN ELEPHANT DE MER DU SUD A L’ANSE DE L’ECHOUE, SITE DE PORT-AUX-FRANÇAIS.....	97
FIGURE 26 : PROTOCOLE POUR MESURE DE LA COMPOSITION CORPORELLE A L’AIDE D’EAU SIMPLEMENT MARQUEE (D ₂ O).	98
FIGURE 27 : PROTOCOLE POUR LA CINETIQUE D’EQUILIBRATION DU DEUTERIUM (D ₂ O).	99
FIGURE 28 : DETERMINATION DU STADE DE MUE AVEC UN EXEMPLE DE FEMELLES EN DEBUT (A), MILIEU (B) ET FIN (C) DE MUE. ...	100
FIGURE 29 : DESIGN EXPERIMENTAL DE L’ETUDE FONCTIONNELLE PAR RESPIROMETRIE HAUTE RESOLUTION, DE LA BIOPSIE MUSCULAIRE JUSQU’AU DEPOT DANS LES CHAMBRES DE L’OROBOROS.	102
FIGURE 30 : SCHEMATISATION FONCTIONNELLE DES PROTOCOLES A (A) ET B (B) ET DES DIFFERENTES VALEURS MESUREES.....	106
FIGURE 31: RELATIONSHIPS BETWEEN METEOROLOGICAL CONDITIONS AND BEHAVIOR OF FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS	123
FIGURE 32: DAILY MASS LOSS PER UNIT OF BODY MASS (G/KG/DAY) OF FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS ACCORDING TO THEIR BEHAVIOR.	124
FIGURE 33: AT-SEA MOVEMENT RECORDED IN ONE MONITORED FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEAL AT MID-STAGE OF MOLT IN 2016, FROM THE SITE OF POINTE SUZANNE (49°26’S, 70°26’E).....	133
FIGURE 34: DIVING PARAMETERS DURING DIFFERENT AT-SEA BEHAVIORS; DIVING OR SURFACE SWIMMING.	134
FIGURE 35: STOMACH TEMPERATURE VARIATIONS (°C) DURING INGESTION EVENTS RECORDED FOR TWO FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS IN 2014 AND 2019.....	136
FIGURE 36: METHOD USED TO CALCULATE THE AREA ABOVE THE CURVE OF DROP IN STOMACH TEMPERATURE DURING INGESTION EVENTS.	137

FIGURE 37: PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS (PCA) INCLUDING NUMBER OF DIVES PER INDIVIDUAL, NUMBER OF SURFACE SWIMS PER INDIVIDUAL, AND MEAN DIVE OR SURFACE SWIMMING DURATION.	138
FIGURE 38: REPARTITION OF JUVENILE SES' AT-SEA ACTIVITIES THROUGHOUT THE POST WEANING PERIOD.....	153
FIGURE 39: DAILY REPARTITION OF JUVENILE SES' AT-SEA ACTIVITIES DURING THE POST WEANING PERIOD (N=6).	153
FIGURE 40: RELATIONSHIPS BETWEEN PHYSIOLOGICAL PARAMETERS AND BEHAVIOR OF JUVENILE FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS.	155
FIGURE 41: RELATIONSHIPS BETWEEN METEOROLOGICAL CONDITIONS AND BEHAVIOR OF JUVENILE FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS.	156
FIGURE 42 : MITOCHONDRIAL RESPIRATORY FLUX IN JUVENILE (N = 5) AND ADULT (N = 6) SOUTHERN ELEPHANT SEALS'S MUSCLE..	179
FIGURE 43 : OVERVIEW OF SES MUSCLE PROTEOMIC BETWEEN JUVENILE AND ADULT SES.....	181
FIGURE 44 : REGULATION OF KEY METABOLIC PATHWAYS IN THE <i>LONGISSIMUS DORSI</i> MUSCLE OF JUVENILES (N = 5) AND ADULT SES (N = 6).	182
FIGURE 45: CELLULAR OXIDATIVE DAMAGE IN ADULT (N = 6) AND JUVENILE (N = 5) FEMALE SOUTHERN ELEPHANT SEALS.	184
FIGURE 46 : BILAN DES FACTEURS JOUANT SUR LES ADAPTATIONS EXPRIMEES PAR LES ELEPHANTS DE MER DU SUD A DIFFERENTS STADE DE VIE, ET POSSIBLES IMPLICATIONS SUR LES PHASES SUIVANTES.	196
FIGURE 47: EVOLUTION DE LA MASSE GRASSE DE JEUNES ELEPHANTS DE MER DU SUD PENDANT LE POST-SEVRAGE.	203
FIGURE 48: INTERRELATIONS ENTRE LES DIFFERENTES VOIES DE REONSE MUSCULAIRES AUX STRESS PHYSIOLOGIQUES EXPERIMENTES PAR L'ELEPHANT DE MER DU SUD ET RAPPEL DES VOIES ACTIVEES CHEZ LES JUVENILES	207
FIGURE 49 : MESURE DE L'EFFET BOHR DU SANG DE FEMELLES JUVENILES (N = 4) ET ADULTES (N = 4) ELEPHANT DE MER DU SUD A 36,5 °C. DONNEES NON PUBLIEES	211
FIGURE 50: CHANGES IN BODY MASS OF EARLY AND LATE-BORN FEMALE JUVENILE GARDEN DORMICE.....	234
FIGURE 51: CHANGES IN DIVING PARAMETERS DURING THE FIRST SEA TRIP OF YOUNG KING PENGUINS	236
FIGURE 52: DAILY TORPOR IN SIBERIAN HAMSTER (<i>PHODOPUS SUNGORUS</i>).	239
FIGURE 53 : NIGHTLY CLUSTERING IN COMMUNAL ROOSTS AND THE REGULAR PRESENCE OF ADULT FEMALES AT NIGHT PROVIDE THERMAL BENEFITS FOR JUVENILE BECHSTEIN'S BATS.	241
FIGURE 54 : COMPARISON OF TWO STORAGE CONDITIONS (FLAME-SEALED CAPILLARIES, AND FROZEN SERUMS) TO MEASURE TOTAL BODY WATER (TBW) IN JUVENILE SOUTHERN ELEPHANT SEALS	258
FIGURE 55 : EQUILIBRATION TIME OF D ₂ O IN JUVENILE SOUTHERN ELEPHANT SEAL.	259

LISTE DES ENCADRÉS ET ESSENTIELS

I. Liste des Encadrés

ENCADRE 1 : BALANCE ENERGETIQUE ET EVOLUTION DES TRAITS D'HISTOIRE DE VIE CHEZ LES PHOCIDES (BOWEN ET AL. 2009)	54
ENCADRE 2: LA « PREDICTIVE ADAPTIVE RESPONSE » (GLUCKMAN ET AL. 2005A)	60
ENCADRE 3: ONTOGENESE DES ADAPTATIONS ; INNE OU ACQUIS ? (RODENBURG 2014 ; CREWS ET AL. 2014)	63
ENCADRE 4 : ELEPHANT DE MER DU SUD, ELEPHANT DE MER DU NORD, QUELLES DIFFERENCES ?	75
ENCADRE 5 : LACUNES ACTUELLES DANS NOTRE CONNAISSANCE DES ELEPHANTS DE MER DU SUD ET DE LEURS ADAPTATIONS FACE AUX CONTRAINTES ET EVENEMENTS EXTREMES.....	83
ENCADRE 6 : RESUME DES CHAPITRES ET HYPOTHESES DE LA THESE	89
ENCADRE 7 : METHODE D'ANALYSE DES CAPACITES DE FIXATION DE L'OXYGENE SUR L'HEMOGLOBINE (RESULTATS PRELIMINAIRES NON PUBLIE).....	210

II. Liste des Essentiels

ESSENTIEL 1 : VARIATIONS ENVIRONNEMENTALES ET CONTRAINTES	40
ESSENTIEL 2 : ADAPTATIONS DE L'ORGANISME A SON ENVIRONNEMENT	57
ESSENTIEL 3: STADE JUVENILE, ENJEUX ET CONTRAINTES.....	71
ESSENTIEL 4 : LE MODELE ELEPHANT DE MER DU SUD.....	83
ESSENTIEL 5 : INTRODUCTION GENERALE ET LIEN AVEC LES OBJECTIFS GENERAUX DE THESE	88
ESSENTIEL 6 : FORCES ET LIMITES DE L'ETUDE	221

GLOSSAIRE

Terme	Définition
Acclimatation	Processus rapide et réversible selon lequel un organisme exprime des traits en réponse à un changement environnemental
Adaptation	<p>L'adaptation renvoie au processus évolutif selon lequel les organismes présentent des traits phénotypiques (physiologiques ou comportementaux) qui permettent d'assurer leurs besoin dans un environnement donné, à un moment donné</p> <p>Les adaptations renvoient aux traits phénotypiques eux-mêmes, observables, issus de ce processus de sélection</p>
Changements globaux	Changement des conditions climatiques dans l'atmosphère et l'hydrosphère terrestres liées aux activités humaines. Alternative à l'expression « réchauffement climatique », ce terme permet de suggérer qu'une hausse de la température moyenne de l'atmosphère n'exclut pas une diminution dans certains espaces, à l'échelle régionale, ainsi que d'autres manifestations que des changements de température (modification des précipitations, la vitesse du vent, etc...)
Écophysiologie	Discipline qui étudie le lien entre l'organisme et son milieu de vie. Elle vise à comprendre comment les organismes font face aux contraintes de leur milieu, en intégrant les réponses comportementales, physiologiques et biochimiques dans un contexte environnemental donné
Environnement	Milieu de vie en constante interaction avec l'organisme y résidant, caractérisé par des paramètres biotiques (espèces résidentes, ressources...) et abiotiques (température, humidité...)
Hypométabolisme	Ajustement physiologique caractérisé par une diminution du métabolisme, en dessous des valeurs usuelles, dans le but d'économiser les ressources limitées de l'organisme
Mésopélagique	Domaine océanique localisé entre 200 et 1000 mètres de profondeur
Ontogenèse	Mise en place, développement de l'objet considéré. Peut se référer au développement embryonnaire (sens strict, ontogénie) ou tout au long de la vie de l'individu, jusqu'à sa mort
Protéomique	Etude de l'ensemble des protéines exprimées par un organisme, une cellule, un tissu, ou un organisme à un moment donné et dans des conditions données
Torpeur	Stratégie d'économie d'énergie caractérisée par une baisse du métabolisme accompagné d'une baisse de la température corporelle. La torpeur peut être journalière (quelques heures par jours) ou de plusieurs jours (enchaînement de torpeurs de plusieurs jours pendant l'hibernation)
Valeur sélective	Aussi appelée « fitness » en anglais. Capacité d'un organisme à transmettre ses gènes à la génération suivante. Les composantes de la valeur sélective sont la reproduction et la survie

SYNOPSIS

Le fonctionnement du corps attise la curiosité depuis toujours. Plutôt à visée médicale d'abord, la discipline de la physiologie connaît un tournant au début du XX^e siècle avec les expériences de Claude Bernard. Cependant, bien que riche en notions préliminaires, le domaine de la physiologie atteint rapidement ses limites lorsqu'il s'agit d'expliquer la grande variabilité d'adaptations ou de comportements entre plusieurs populations, individus, voire chez un même individu au fil du temps. L'écophysiologie propose d'inclure à l'étude mécanistique l'effet de l'environnement, milieu qui entoure l'organisme et en constante interaction avec celui-ci, afin de comprendre dans quelle mesure il impacte les réponses biochimiques, physiologiques, et comportementales d'un individu.

Mais quel est notre rapport à notre environnement ? L'homme est particulièrement proactif dans la modification des paramètres de son environnement dans l'optique d'un meilleur confort : très tôt, l'utilisation du feu lui a permis de se maintenir dans sa zone de confort thermique, se défendre des prédateurs, puis l'agriculture de s'assurer une disponibilité suffisante en ressources à proximité... cependant, comment font des organismes qui subissent bien plus la variabilité spatio-temporelle environnementale ? En particulier lorsque l'environnement est hostile ?

Lorsqu'un organisme se retrouve en conditions difficiles, où la demande énergétique nécessaire à son maintien dépasse l'énergie disponible, une réponse largement répandue dans le domaine du vivant est l'hypométabolisme. Le corps, d'un point de vue global, se met au ralenti, accompagné ou non d'une baisse de la température corporelle, et économise de l'énergie. Cela permet de prioriser certains postes de consommation d'énergie, comme la prise de masse, ou la maturation physiologique, au détriment d'autres, comme la croissance ou la reproduction. En allant plus loin, on se rend compte qu'à l'échelle même des organes, certains sont toujours autant approvisionnés en énergie contrairement à d'autres, comme le cerveau ou le muscle cardiaque, organes dits prioritaires. Ainsi, pour comprendre finement les adaptations à l'échelle d'une population, d'un groupe d'individus, et de l'individu lui-même, il est primordial d'observer les différents niveaux et postes de consommation d'énergie, pour mieux appréhender les compromis énergétiques et leurs enjeux.

C'est dans cette dynamique que se positionne ce travail de thèse de doctorat. L'objectif est de comprendre les adaptations physiologiques et comportementales des éléphants de mer du sud face aux contraintes imposées par les différents milieux dans lesquels ils évoluent, en balayant les différentes échelles mentionnées ci-dessus. L'idée originelle était d'inclure des données comportementales, physiologiques globales (métabolisme général) et locales (à l'échelle des organes et cellulaire). Cependant, l'expérimentation sur une espèce protégée et en réserve naturelle ne nous a pas permis de réaliser les mesures métaboliques à l'échelle du corps entier. Aussi, l'expérimentation sur effectif réduit et la limitation du nombre de manipulations sur chaque individu ont rendu difficile l'explication de la variabilité individuelle et la mise en relation de ces différentes échelles. Ainsi, si l'expérience idéale aurait été de réaliser l'ensemble de ces chapitres sur les mêmes individus, l'histoire est au final plus découpée, mais les liens globaux entre ces échelles tout de même suggérés et discutés en fin de travail. Nous espérons ainsi apporter une vision globale et pluridisciplinaire, allant du comportement à la physiologie, du déplacement au cellulaire, tout en ouvrant sur des questions plus évolutives, à cette notion d'adaptation chez une espèce particulièrement exposée à ces contraintes et ces compromis tout au long de son cycle de vie.

INTRODUCTION GÉNÉRALE



©Laura Charlanne

I. Variations environnementales et contraintes pour les organismes à différentes échelles

A. L'environnement comme milieu de vie des organismes

Tout organisme peut être considéré comme un système ouvert, traversé par un flux d'énergie, et en constante interaction avec son environnement. Cet environnement, ou milieu de vie, est constitué de nombreux paramètres, comme les ressources trophiques, la disponibilité en eau, la température, l'humidité, le vent, ou encore la pression de prédation. Ces composantes peuvent être source d'énergie pour l'organisme (ressources trophiques, disponibilité en oxygène), ou représenter une contrainte (prédation, température élevée), et sont susceptibles de varier dans le temps et dans l'espace. Le domaine de l'écophysiologie s'intéresse aux interactions de l'organisme avec ce milieu, et comment ses différentes composantes et leur variabilité spatio-temporelle affectent les réponses physiologiques, comportementales, et biochimiques des individus (Meyers and Bull 2002).

B. Fluctuations de l'environnement et contraintes pour les organismes

L'environnement présente une variabilité dans le temps et dans l'espace, qui peut affecter les organismes de différentes manières. Cet effet peut être direct, comme des modifications métaboliques suite à des variations de température par exemple, ou indirect, par la modification de l'accès aux ressources, et donc de la quantité d'énergie disponible. Ainsi, chaque composante environnementale dont la variabilité et l'intensité est susceptible d'affecter un organisme peut représenter une contrainte à un moment donné, et être à l'origine d'une réponse physiologique ou comportementale des individus. La variabilité peut être spatiale ou temporelle, et caractérisée par son intensité, sa fréquence et sa prédictibilité (Meyers and Bull 2002).

a. Variations spatiales des conditions environnementales

L'hétérogénéité spatiale correspond à une distribution inégale dans l'espace des paramètres de l'environnement, comme de l'énergie disponible ou des contraintes. Cette hétérogénéité peut être localisée, ou bien être au contraire très étendue, et dépendante de plusieurs facteurs. Dans le cas de la disponibilité en ressources par exemple, les conditions environnementales locales, définissant des micro-environnements, sont déterminantes. Par exemple, dans le milieu marin, la répartition des producteurs primaires (phytoplancton) dans la colonne d'eau est très dépendante de la température et de la luminosité. Par conséquent, l'ensemble de la chaîne trophique (plancton, copépodes, puis autres consommateurs tels que les Myctophidés) se trouve réparti selon ces conditions environnementales. Aussi, la disponibilité en ressource est également dépendante de la densité d'organismes consommateurs, ou de la disponibilité *per capita*, c'est-à-dire accessible par chaque individu d'une population. Ainsi, la taille de la population, ou du moins le rapport entre la quantité de ressources disponibles sur un site de recherche alimentaire et le nombre d'individus qui l'exploite, joue également sur cette hétérogénéité spatiale. Cette notion a été établie en 1963 chez les oiseaux marins coloniaux, suggérant une diminution des ressources avoisinantes au fur et à mesure que les populations croissent et les exploitent (Ashmole 1963).

b. Variations temporelles de l'environnement

En plus d'une hétérogénéité spatiale, l'environnement peut présenter des fluctuations dans le temps. Ces fluctuations peuvent être périodiques, régulières, ou bien imprévisibles, et d'intensité variable.

i. Variations périodiques de l'environnement

On parle de changement périodique lorsque, peu importe son intensité, sa périodicité reste constante. Par exemple, si nous reprenons l'exemple de la distribution des ressources dans la colonne d'eau à l'échelle d'une journée, la répartition des producteurs primaires change suivant les conditions journalières (ex : luminosité et température). Notamment, on observe une remontée des différents niveaux trophiques et des proies à la tombée de la nuit, ce qui est facilement observable dans le comportement de recherche alimentaire des

prédateurs marins, qui suivent la répartition des proies (Croll et al. 1998 ; Burns et al. 1999 ; Gentry and Kooyman 2014).

A plus large échelle, une autre périodicité intra-annuelle régulière des conditions environnementales est la variabilité saisonnière de la disponibilité en ressource. Cette variabilité est particulièrement marquée en milieu terrestre, avec la saisonnalité des producteurs primaires, mais s'observe également en milieu marin (Figure 1), avec des « blooms » planctoniques saisonniers (Thomalla et al. 2011, 2023).

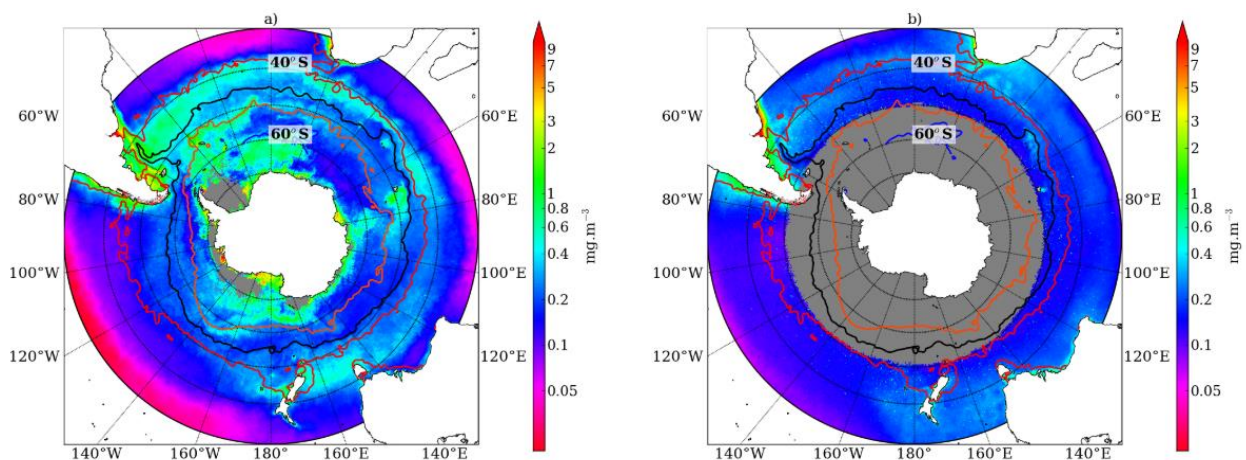


Figure 1 : saisonnalité dans la répartition de la chlorophylle a au niveau de l'océan Austral.

Distribution spatiale de la concentration moyenne en chlorophylle de l'océan Austral (a) en été (janvier) et (b) en hiver (juillet). Les lignes de couleurs indiquent les positions moyennes de janvier et juillet (1998-2007) du front subtropical (rouge), du front polaire (orange) et du courant circumpolaire antarctique (bleu) (Thomalla et al. 2011).

Enfin, une variabilité intra-annuelle peut également être observée suivant le cycle de vie des organismes. En effet, un changement de milieu annuel, pour la reproduction par exemple, peut amener l'organisme à s'exposer à une moindre disponibilité en ressource. C'est le cas de nombreux animaux marins, mammifères et oiseaux, qui se nourrissent en mer mais reviennent à terre pour se reproduire, alors forcés de jeûner plusieurs jours voire plusieurs semaines (Slip et al. 1992 ; Worthy et al. 1992 ; Gentry and Kooyman 2014).

ii. Variations imprévisibles de l'environnement

Des variations environnementales imprévisibles constituent un milieu dit « stochastique », particulièrement contraignant pour les organismes. Ces variations peuvent être observées à l'échelle saisonnière, comme un hiver particulièrement rude et long en milieu terrestre par exemple. En milieu marin, des événements imprévisibles comme des tempêtes peuvent aussi avoir des conséquences sur la répartition des proies disponibles et le succès de pêche des prédateurs, tels que les oiseaux marins. Par exemple, la Figure 2 montre les changements dans les trajets alimentaires des manchots pygmées pendant et après la tempête de novembre 2018 à Philip Island dans le sud de l'Australie (Barreau et al. 2021). Si les organismes sont habitués à des variations périodiques, les conséquences d'événements ponctuels et contraignants peuvent être particulièrement importantes en termes de survie, et donc de sélection d'individus présentant une réponse efficace à de telles contraintes.

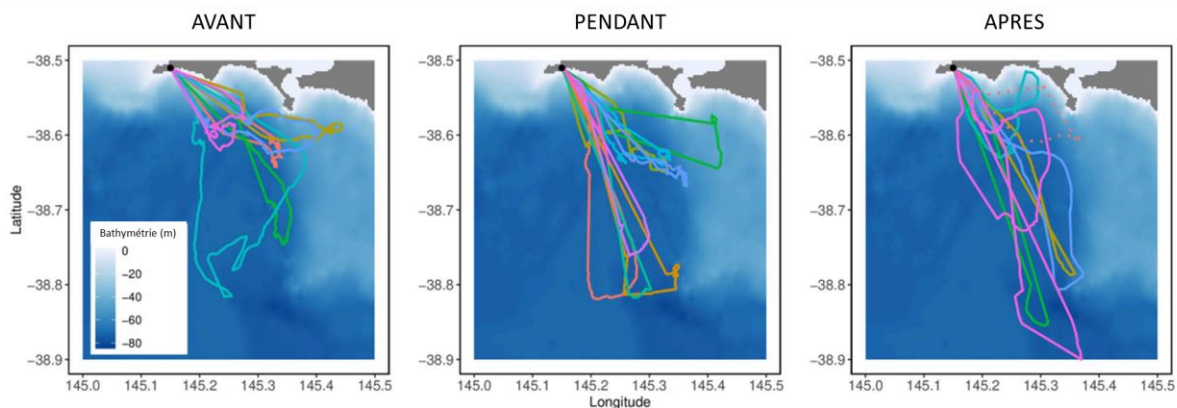


Figure 2 : effet de la tempête de novembre 2018 sur le comportement de recherche alimentaire des manchots pygmées

Modification des trajets de recherche alimentaire des manchots pygmées issus de la colonie de Philip Island avant (du 20 au 21), pendant (du 22 au 24), et après (du 27 au 29) la tempête de Novembre 2018. La bathymétrie est représentée par un dégradé de bleu (Barreau et al. 2021).

c. Changement climatique et variabilité spatiale

i. Constat et prédictions

En plus des variations précédemment énoncées, et avec une occurrence de plus en plus actée aujourd'hui, les organismes font face au changement climatique global. Les

changements climatiques sont définis par toute modification d'un facteur climatique, de sa moyenne et / ou de sa variabilité, qui persiste sur de longues périodes d'au moins une dizaine d'années (IPCC 2023). Les changements climatiques peuvent se traduire dans un premier temps par la modification à long terme des paramètres abiotiques et biotiques des milieux. Par exemple, on rapporte une augmentation globale de la température de la surface de la terre de 1,1°C sur la période 2011-2020, une hausse du niveau de la mer (0,2 m entre 1901 et 2018), et une diminution de la glace de mer en Arctique et Antarctique, d'environ $12,8 \pm 2,3$ % par décennie (IPCC 2023).

Le changement climatique s'exprime aussi par une augmentation de la fréquence et de l'intensité d'événements imprévisibles, comme des tempêtes, des hivers rudes, ou encore les variations extrêmes du niveau de la mer, comme montré sur la Figure 3 (Easterling et al. 2000 ; Orłowsky and Seneviratne 2012 ; Ummenhofer and Meehl 2017 ; Calvin et al. 2023).

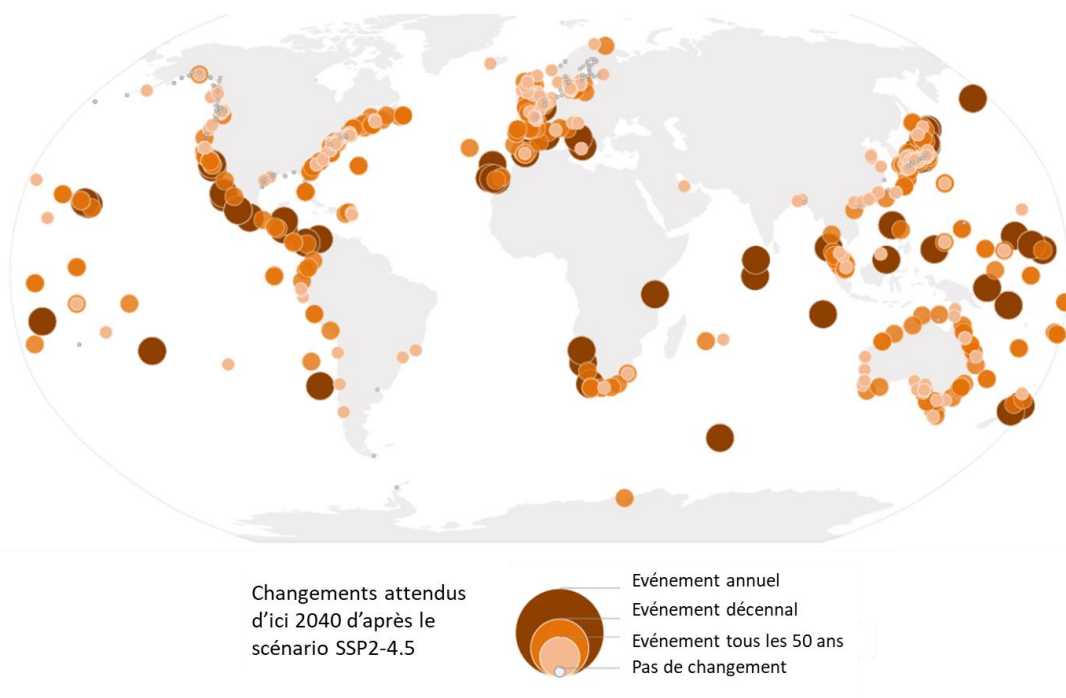


Figure 3 : augmentation de la fréquence de changements extrêmes du niveau de la mer d'ici 2040.

Ces événements ont d'ordinaire lieu tous les 100 ans. L'absence de cercle indique l'impossibilité d'émettre des prédictions en raison de manque de données (Calvin et al. 2023).

ii. Variabilité géographique du changement climatique ; zones polaires et océan austral

Les différentes régions du globe et les écosystèmes ne sont pas affectés de la même façon par les changements climatiques, dont les conséquences sont variables. Certains écosystèmes sont plus sensibles aux changements, comme les écosystèmes côtiers ou polaires. En effet, les conditions de vie au niveau des pôles sont extrêmes, et ces régions particulièrement exposées au réchauffement climatique et à la fonte de la glace en Arctique et Antarctique par exemple. C'est aussi au niveau des pôles, et par les changements de densité de l'eau, que s'initient différents courants marins, moteurs de la circulation océanique, comme le courant circumpolaire antarctique, dont les perturbations auront des conséquences drastiques sur le climat global (Böning et al. 2008 ; Timmermans and Marshall 2020).

Face au réchauffement actuel, des changements pérennes de certains paramètres météorologiques ont déjà été reportés dans les zones subantarctiques. Par exemple, les îles Macquarie, Kerguelen et Marion se sont réchauffées entre 0,8°C and 1,7°C depuis les années 1950, et des prédictions sur le siècle à venir parlent d'une hausse de la température ambiante allant jusqu'à +2,8°C, comme reporté dans la Table 1 (Nel et al. 2023).

Le nombre d'événements extrêmes augmente également au niveau des pôles. En région antarctique, on note l'augmentation de la fréquence des vagues de chaleur marines – des périodes de températures anormalement hautes, ayant un impact sur la biodiversité et les écosystèmes marins. Autrefois sporadiques, on recense 19 événements entre 2002 and 2018 dans l'océan austral. En particulier, ces vagues de chaleurs autrefois isolées ont tendance aujourd'hui à être concomitantes et à entrer en synergie, avec pour effet de diminuer la survie, la reproduction, la croissance et le développement des espèces résidentes (Harvey et al. 2013 ; Kroeker et al. 2013 ; Burger et al. 2022). Tous ces changements de l'océan austral, qu'ils soient ponctuels ou à long terme, sont à l'origine de menaces déjà observées et à venir, incluant (i) une réduction de la glace de mer, et la perte d'habitats pour de nombreuses espèces endémiques, (ii) des changements dans la stabilité et répartition des organismes dans la colonne d'eau, à savoir le krill, les amphipodes, les poissons, avec des conséquences majeures sur le reste de la chaîne trophique, dont les prédateurs marins (Figure 4), et (iii) des modifications des courants marins, avec le recul du front polaire, la zone de recherche alimentaire de nombreux prédateurs marins, mais aussi des modifications des zones majeures de production primaire, et, encore une fois, avec des conséquences sur les espèces résidentes

des îles antarctiques et subantarctiques (Harley et al. 2006 ; Kovacs et al. 2011 ; McMahon et al. 2019 ; McQuaid 2023).

Stations	Période	Température moyenne(°C)	Tendance (°C)	Tendance /100 ans (°C)
Marion	1950 – 2021	5,4	+1,7	+2,4
	2000 – 2021	6,0	+0,6	+2,9
Crozet	1969 – 2021	5,3	+0,7	+1,2
	2006 – 2021	5,5	-	-
Kerguelen	1951 – 2020	4,8	+1,1	+1,5
	2000 – 2020	5,1	+0,6	+2,8
Macquarie	1951 – 2021	4,8	+0,8	+1,1
	2000 – 2021	5,1	+0,5	+2,3

Table 1: évolution de la température ambiante moyenne au cours des 50 dernière années, et tendances à long terme dans quelques stations subantarctiques.

Adaptée de Nel, Hedding and Rudolph 2023.

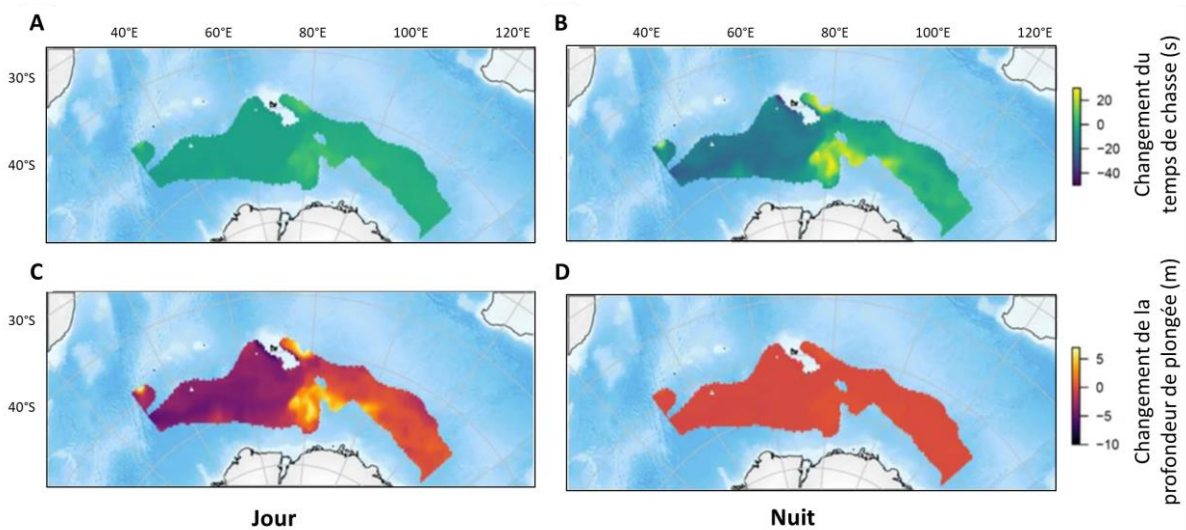


Figure 4 : changements attendus dans la distribution verticale et l'abondance des proies mésopélagiques dans la zone Antarctique entre 2019 et 2100.

Les estimations de la distribution des proies mésopélagiques (poissons, calmars et macro-zooplancton) sont déduites de la profondeur des plongées de prédateurs marins (éléphants de mer du sud, *Mirounga leonina*) à partir de modèles statistiques et des projections des conditions océanographiques futures. Les panels montrent les changements attendus en termes de temps de chasse (secondes) pendant (A) le jour et (B) la nuit, et de profondeur de plongée (mètres) pendant (C) le jour et (D) la nuit. Les modèles suggèrent que la partie ouest de la zone de recherche alimentaire de ces prédateurs sera amenée à être plus profonde (changement négatif de 15 m). Adaptée de McMahon et al. 2019.

C. Milieux extrêmes, définitions et implications

a. Qu'est-ce qu'un milieu extrême ?

Notre perception anthropocentrée de l'environnement et des conditions qui nous sont favorables induisent un biais dans la perception de ce qu'est un environnement extrême. Une définition stricte indique qu'il s'agit d'un environnement dont les conditions de vie sortent du cadre de ce que les cellules mésophiles (dont la température optimale de croissance est comprise entre 25 et 40°C) peuvent tolérer (Xiao and Zhang 2014). Cependant, en s'appuyant sur ce qui peut nous paraître « normal » comme conditions de vie, serait alors considéré extrême tout milieu caractérisé par des valeurs très basses ou très hautes des paramètres

principaux jouant sur le cycle de vie, comme la température, le pH, la disponibilité en oxygène, ou encore la disponibilité en ressources (Oarga 2009). Par exemple, la plupart des organismes ont besoin d'oxygène pour la production d'énergie, mais tous les milieux n'en contiennent pas une concentration équivalente. Par exemple, le milieu aquatique est pauvre en oxygène disponible comparé au milieu aérien, et cette disponibilité varie avec la profondeur, la température, la salinité, et la quantité de matière organique qui le produit où le consomme. Produit par les organismes photosynthétiques dans la partie haute de la colonne d'eau, dont la stratification n'en permet pas une répartition homogène, les milieux plus profonds sont généralement hypoxiques, soit à moins de 2 mL d'oxygène par litre d'eau (Schubert et al. 2017). Cette répartition est aussi variable selon la période de l'année, la dissolution de l'oxygène étant dépendante de la température et de la salinité de l'eau, comme illustré en Figure 5 (Igarza et al. 2019). En plus, pour les Mammifères plongeurs, qui sont pulmonés, l'oxygène dissout n'est pas disponible, ce qui fait du milieu marin un milieu hypoxique, et nécessite de faire un stock en surface avant d'évoluer pour un temps bien défini dans ce milieu.

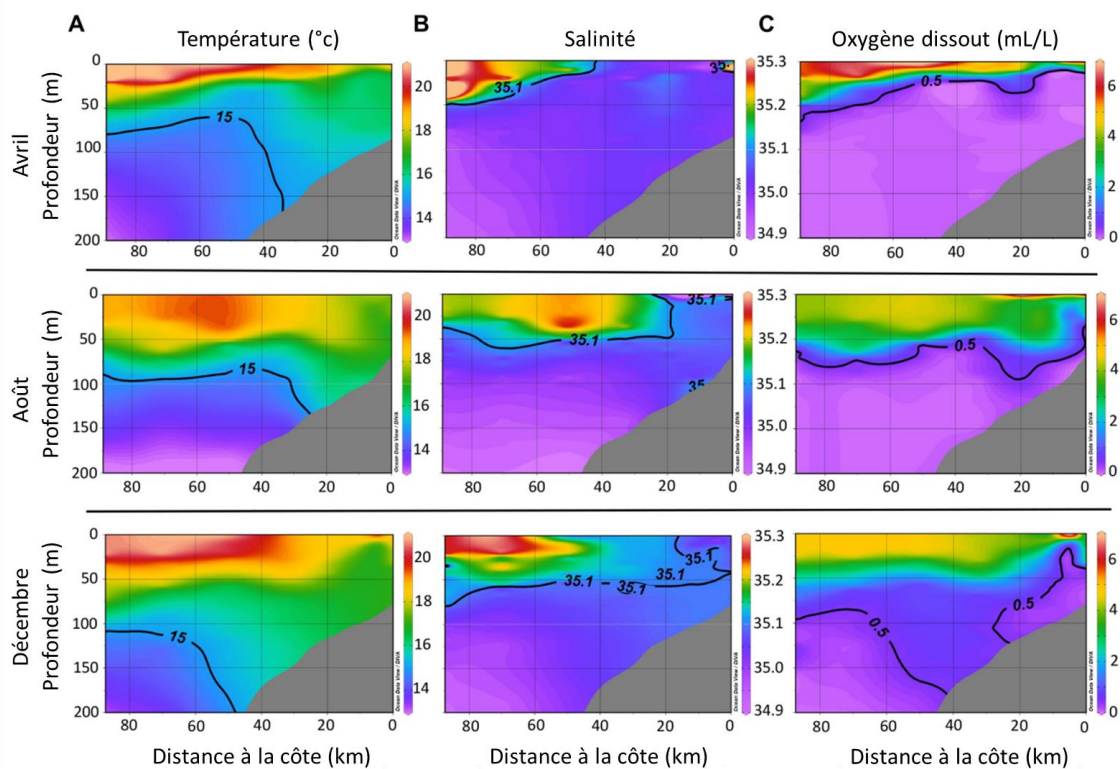


Figure 5 : profils de température (A) ; salinité (B) et concentration en oxygène dissout (C) et variations saisonnières sur un transect situé au large du centre du Pérou (Callao – 12°S). (Igarza et al. 2019).

b. Expérience et variabilité des environnements extrêmes

Certains organismes résident continuellement dans un environnement que l'on qualifie d'extrême, selon la définition apportée plus tôt. Si l'on reprend l'exemple du milieu marin, les cétacés évoluent continuellement dans ce milieu, et viennent respirer régulièrement en surface. Considérant un autre milieu extrême, les espèces vivant en milieux désertiques, comme certains ongulés, doivent faire face à des températures très élevées (jusqu'à 50°C) et des restrictions en eau, puisque certaines zones cumulent moins de 100 mm de précipitations par an (Newby et al. 2016). L'expérience « continue » et la constance de ces contraintes tout au long de leur vie permet d'envisager que ces animaux ne le vivent pas comme tel, et sont adaptés à ces conditions. Cependant, d'autres espèces alternent régulièrement entre différents environnements, parfois très différents. Par exemple, les oiseaux et mammifères marins alternent des phases en milieu aérien, pendant la reproduction, la mue, et des voyages en mer en milieu où l'oxygène est limité. De la même façon, les environnements saisonniers marqués exposent les résidents à des températures extrêmes à certains moments de leur cycle. Par exemple, les écureuils arctiques dans le nord de l'Alaska sont exposés à des températures pouvant aller jusqu'à -18°C dans leur terriers, contre 10 à 15°C pendant l'été (Chappell 1981 ; Barnes 1989). La coexistence d'un même organisme dans des milieux aussi différents questionne l'existence d'une adaptation qui permettrait la résidence à l'état physiologique dans ces milieux, ou d'une variabilité d'adaptations qui permettraient la survie tout au long du cycle de vie.

Suite à cette partie, il apparaît que l'environnement de vie d'un organisme peut être extrêmement variable, de manière plus ou moins intense, plus ou moins continue, représentant des contraintes plus ou moins extrêmes. Comment les organismes survivent-ils dans ce type de milieux, surtout lorsqu'ils évoluent régulièrement dans des milieux très différents ?

Essentiel 1 : variations environnementales et contraintes

- L'environnement est caractérisé par des facteurs **biotiques et abiotiques**, en interaction constante avec l'organisme qui y réside
- L'environnement peut représenter un **contrainte** pour l'organisme si ses paramètres ne sont pas / plus en adéquation avec les besoins de l'organisme résidant
- **L'environnement fluctue** dans le temps, de manière périodique (journalier, saisonnier) ou imprévisible (événements climatiques ponctuels, comme des tempêtes), et cela de manière plus ou moins intense. Le **réchauffement climatique** tend à augmenter la fréquence d'événements imprévisibles et à accroître les contraintes en modifiant les environnements de vie, l'accès aux ressources, aux zones reproductrices. Cet effet est déjà très marqué au niveau des pôles et devrait s'amplifier les années à venir
- Nous qualifions **d'environnement extrême** tout environnement caractérisé par des valeurs très hautes ou très basses de ses paramètres jouant sur la survie des organismes résidents

II. Adaptations des organismes à leur environnement et aux différents événements de leur cycle de vie

A. Pourquoi des adaptations ?

a. Mise en évidence du phénomène d'adaptation

Comme décrit précédemment, tout environnement naturel présente une variabilité, quelle que soit l'échelle considérée. Cependant, malgré cette diversité d'environnements, la sélection naturelle tend à maximiser la fitness des êtres vivants, par leur survie et / ou reproduction, malgré les contraintes phylogénétiques existantes (Roff 1993 ; Dodson et al. 1999). Cette notion est à la base de la théorie d'évolution des traits d'histoire de vie, qui définit différentes stratégies, ou groupe de traits (démographiques) coadaptés et conçus par la sélection naturelle, afin de répondre à certains problèmes écologiques (Stearns 1976). Cette notion démographique et dichotomique initiale a ensuite été nuancée, exprimée sous la forme d'un continuum de rythme de vie (ou « pace of life »), en intégrant aussi les variations physiologiques et comportementales entre différentes espèces, et s'appliquant aussi à

l'échelle des populations (Stearns and Stearns 1992 ; Réale et al. 2010). En considérant que le maintien de la fitness s'appuie en partie sur la survie de l'organisme dans son environnement, on peut s'intéresser aux variations physiologiques sur lesquelles la sélection naturelle peut jouer. La survie passe notamment par la conservation de certains paramètres biologiques constants, comme la température, ou le pH du milieu intérieur, malgré un environnement parfois très différents selon les organismes, et des fluctuations plus ou moins importantes de ce dernier. Cette constance du milieu interne, ou homéostasie, définie par Claude Bernard puis Walther Cannon dans les années 1920, est indispensable au maintien d'un organisme. Cependant, cette maintenance représente un coût, et, dans un environnement stressant, où les contraintes sont importantes et la disponibilité en énergie inconstante, le maintien d'un équilibre du milieu intérieur passe par une modification physiologique et / ou comportementale de l'organisme (Cannon 1929). Il existe plusieurs moyens de maintenir cette homéostasie ; la tolérance, qui se traduit par une modification physiologique ou morphologique face à la variabilité environnementale, et un organisme qui reste dans l'environnement contraignant. Sinon, l'évitement peut être employé, et l'organisme se soustrait à la contrainte lorsque sa limite physiologique est dépassée. Par exemple, la migration ou la torpeur sont des stratégies d'évitement des contraintes, bien connues dans le domaine du vivant, chez les mammifères (torpeur, hibernation), les oiseaux (migration), les insectes (diapause), et les végétaux (dormance).

b. Les concepts d'adaptation, acclimatation, et variabilité individuelle

Le terme adaptation est sujet à controverse, car il peut signifier différentes choses selon le domaine de la biologie qui l'emploie, et parce qu'il définit à la fois un processus et une observation à un moment t . L'adaptation comme processus est définie comme une modification lente et irréversible du génome, par la conservation de modifications avantageuses dans un environnement donné, et transmises à la descendance, en réponse à la sélection naturelle. Ce phénomène n'est pas observable directement car il s'étend sur des centaines voire des milliers de générations. Cependant, le fruit de ce processus évolutif est observable à un moment t : il s'agit des adaptations, ou traits, exprimés par un individu, spécifiques de l'environnement dans lequel il évolue, génotypes issus de ce processus. Ces concepts sont centraux en écologie et évolution. Cependant, en écophysiologie, une définition

encore plus large peut-être donnée, en s'affranchissant de la notion de génotype, qui n'est pas accessible par simple observation. Dans ce cas, l'adaptation se réfère à la réponse phénotypique d'un individu face à l'environnement dans lequel il évolue, comme illustré en Figure 6. Cette réponse peut être basée sur le génotype, mais aussi inclure la plasticité phénotypique (adaptation changeante face à la variabilité environnementale). Ces adaptations peuvent être constantes ou variables tout au long de la vie d'un individu. Cette variabilité intra-individuelle, en réponse à des changements des contraintes de l'environnement, se rapporte au terme « d'acclimatation », ou « acclimatisation » en anglais (Callow and Forbes 1998 ; Schubert et al. 2017). Aussi, au sein d'une population, plusieurs adaptations peuvent être observées chez différents individus en réponse à une même contrainte environnementale. Ces variations peuvent être le fruit de différentes choses : des variations locales qui peuvent exposer les individus à une répartition inégale des ressources, modifiant ponctuellement les coûts / bénéfices d'accès, et se traduisant par une réponse différente comportementale et / ou physiologique. Aussi, des différences propres aux individus peuvent exister si, encore une fois, l'énergie disponible pour chacun est inégale (réserves corporelles différentes, individus plus petits que d'autres, etc.). Enfin, les choix des congénères peuvent également être à l'origine d'une réponse phénotypique différente. Si l'ensemble du groupe se positionne sur un site de ressources, est-il plus intéressant de suivre et partager, s'épargnant le coût de la recherche, ou bien de chercher un autre site, où plus de ressources seront potentiellement disponibles ? Tous ces paramètres, qu'ils soient environnementaux ou physiologiques, sont à l'origine d'une diversité des adaptations observables à un moment donné au sein d'une seule population, pouvant changer ou non tout au long de la vie d'un individu (Mendl and Deag 1995). Par conséquent, dans cette étude, nous considérons les adaptations comme l'observation ponctuelle de traits phénotypiques physiologiques et comportementaux, exprimés en réponse aux contraintes de l'environnement, constants ou variables à l'échelle de la vie d'un individu, et pouvant présenter une variabilité individuelle.

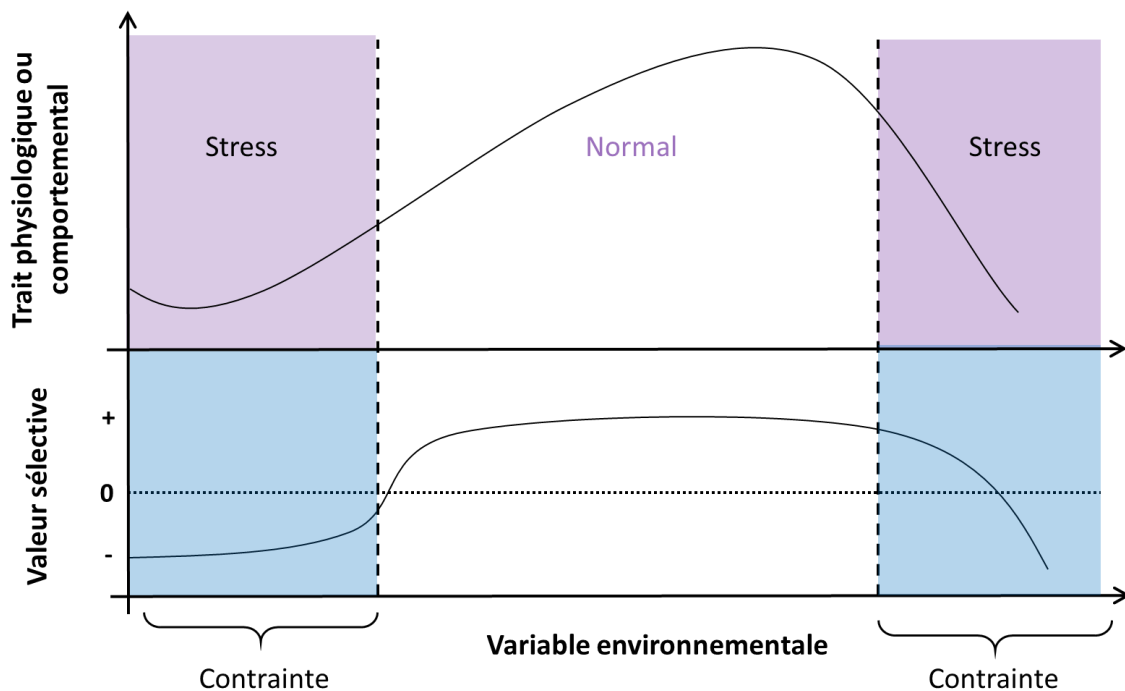


Figure 6 : relation théorique entre variable environnementale, trait physiologique ou comportemental, et valeur sélective relative.

On parle de contrainte environnementale lorsque l'environnement devient stressant pour l'organisme, c'est-à-dire lorsque la valeur sélective de l'individu devient négative. On observera alors une modification du trait (Calow and Forbes 1998).

c. Définition des événements extrêmes

Précédemment, nous avons défini un milieu extrême comme tout milieu caractérisé par des valeurs seuils des paramètres principaux, plaçant l'organisme en situation de stress physiologique (Oarga 2009). Cependant, un organisme peut se retrouver dans ce même état de stress physiologique pour d'autres raisons, notamment lorsqu'un événement biologique particulier vient en perturber l'homéostasie. Par exemple, lors de la lactation, qui est un événement biologique coûteux et récurrent du cycle d'un mammifère femelle, l'organisme peut se trouver en état de stress face à un déséquilibre énergétique marqué, lorsque les apports nutritionnels ne compensent pas les pertes énergétiques. Dans ce contexte, nous définissons un événement extrême comme un épisode physiologique au cours duquel les capacités d'adaptations d'un organisme sont largement dépassées, et cela que

l'environnement soit extrême ou non. Pendant cet événement, l'organisme (ou la population) présente alors des réponses physiologiques et comportementales qui sont significativement différentes des adaptations normales (Gutschick and Bassirrad 2003). Ces événements sont alors d'autant plus coûteux qu'ils ont lieu dans un environnement extrême, et cela de manière récurrente tout au long de la vie de l'organisme considéré.

B. Adaptations aux événements et environnements extrêmes : exemple des alternances milieu marin et milieu terrestre

Dans cette partie, nous allons nous intéresser à une mode de vie particulier, qui implique différents milieux et événements extrêmes, comme décrits précédemment. Pour des organismes qui disposent de poumons comme les mammifères, ou de sacs aériens, comme les oiseaux, la respiration est réalisée dans le milieu aérien. Cependant, nombreux sont les oiseaux et mammifères qui évoluent dans le milieu marin pour des durées plus ou moins longues, en dépit de la non disponibilité en oxygène du milieu, obligeant la plongée en apnée. De plus, si certains y séjournent continuellement, comme les cétacés, d'autres comme les pinnipèdes et les sphénisciformes alternent des phases en mer avec des phases à terre de manière répétées, posant la question des contraintes et adaptations spécifiques permettant la colonisation de ces différents milieux.

a. Adaptations au milieu marin, milieu hypoxique de recherche alimentaire

L'océan est tout d'abord une zone de recherche alimentaire pour les animaux marins, qui s'y trouvent de manière transitoire ou continue selon les espèces. En plus d'adaptations morphologiques évidentes telles qu'un corps fuselé et des nageoires puissantes, qui augmentent l'hydrodynamisme et réduisent la friction avec l'eau, d'autres adaptations physiologiques contribuent à cette vie en milieu marin, pendant les plongées en apnée.

i. Adaptations physiologiques générales à la restriction en oxygène

Évoluer dans le milieu marin pour les mammifères pulmonés et oiseaux implique de plonger en apnée. Cependant l'oxygène est nécessaire pour produire de l'énergie par

métabolisme aérobie, donc pour nager ou chasser. Les animaux constituent des réserves d'oxygène en surface, stocké dans le sang, les poumons, ou les muscles, avant de passer un certain temps sous l'eau. La durée d'apnée possible, et donc la durée de plongée (« Aerobic Dive Limit » ou ADL en anglais), repose sur ces réserves. Les animaux marins présentent des adaptations qui leur permettent de maximiser ces réserves d'oxygène, dans le sang, relié à l'hémoglobine, et dans les muscles, à la myoglobine. Ces adaptations se traduisent notamment par une augmentation du volume sanguin, de la concentration en hémoglobine ainsi qu'en myoglobine par rapport aux mammifères terrestres (Table 2, Figure 7) (Davis 2014).

Espèce	Volume respiratoire en plongée (ml/kg)	Volume sanguin (ml/kg)	Hémoglobine (g/dl)	Masse musculaire (% de la masse totale)	Myoglobine (g/100 g)
Otarie de Californie	48	120	18	37	5,4
Phoque commun	30	150	23	30	5,5
Phoque de Weddell	27	210	26	38	5,4
Éléphant de mer du nord	27	216	25	28	6,5
Manchot Adélie	200	87	16	40	3,0
Manchot Royal	125	83	18	33	4,3
Manchot Empereur	117	100	18	25 ^a	6,4 ^a
Vache	66	71	12	33	0,4

Table 2 : quantité d'oxygène stockée et paramètres déterminants chez différents mammifères et oiseaux marins en comparaison avec un mammifère terrestre.

Repris de Davis 2019.

^a : mesure dans le muscle pectoral

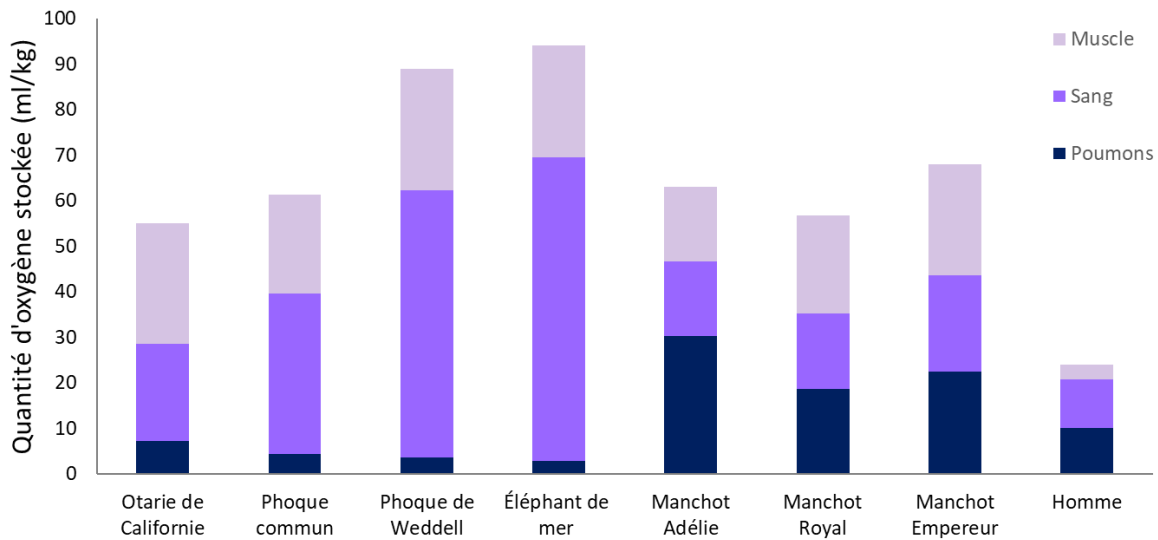


Figure 7 : quantité d'oxygène stockée et répartition dans les différents compartiments chez mammifères et oiseaux marins, en comparaison avec l'homme.

Repris de Davis 2019

Malgré des réserves bien définies pour la masse et la taille d'un animal, des plongées plus longues que prévues ont été observées, sans toutefois forcément basculer sur un métabolisme anaérobie, basées sur une consommation moyenne d'oxygène. Les hypothèses rendant possible cet allongement de durée de plongée aérobie sont une diminution du métabolisme global pendant la plongée, une redistribution du flux sanguin et de l'oxygène aux organes « prioritaires » comme le cerveau, les muscles, et un shunt de certains organes comme les reins (Castellini et al. 1992, 1994 ; Andrews et al. 1997 ; Kooyman and Ponganis 1998 ; Elsner 1999 ; Stockard et al. 2007).

ii. Adaptations locales et mitochondriales à la restriction en oxygène

En plus d'une redistribution ajustée, la consommation d'oxygène elle-même est optimisée à l'échelle cellulaire. Le tissu musculaire est l'un des tissus les plus gourmands en oxygène pendant sa contraction (Millikan and Barcroft 1937), et est particulièrement sollicité pendant les plongées chez les phocidés, qui maintiennent une activité importante malgré l'apnée. Une adaptation musculaire bien décrite permettant de maintenir un apport en oxygène pendant l'apnée est une augmentation de la quantité de myoglobine et du stock d'oxygène musculaire (Noren et al. 2001 ; LaRosa et al. 2012). Cependant, d'autres

adaptations fonctionnelles existent, jouant sur la consommation d'oxygène et production d'énergie au niveau du muscle. Celles-ci sont contrôlées localement par les mitochondries, organites à double membranes responsables de la phosphorylation oxydative, c'est-à-dire de l'ensemble des réactions permettant le couplage de l'oxydation de métabolites et coenzymes à la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de phosphate inorganique. Cette synthèse est réalisée au niveau de la membrane interne de la mitochondrie, par la chaîne respiratoire, qui couple la phosphorylation de l'ATP à un transfert d'électrons jusqu'à l'oxygène, accepteur final (Figure 8). Les électrons proviennent de molécules réduites, le NADH et FADH₂, produits par différentes voies mitochondriales (cycle de Krebs, β -oxydation) et cellulaires (glycolyse). A ce flux d'électrons est associé un transfert actif de protons de la matrice vers l'espace intermembranaire générant la force protonotrice. Cette force, lorsque le retour des protons dans la matrice est couplé à l'ATP synthase, permet la phosphorylation de l'ADP en ATP, correspondant au stade OXPHOS. Cependant, une partie de ces protons peut aussi revenir dans la matrice mitochondriale sans passer par l'ATP synthase, en traversant la membrane passivement ou par l'intermédiaire de protéines découplantes (protéines UCP). Il s'agit alors du gradient de fuite, ou LEAK, qui est d'autant plus important que la mitochondrie est découplée. L'ensemble des réactions d'oxydo-réduction ainsi que le transfert d'électrons sont réalisés par les différents complexes protéiques de la chaîne respiratoire (complexes I à IV, ubiquinone et cytochrome c, et ATP synthase). Puis, en fin de processus, l'ATP synthétisé est exporté dans le cytosol par l'ADP/ATP translocase, située dans la membrane interne de la mitochondrie (Mitchell 1961).

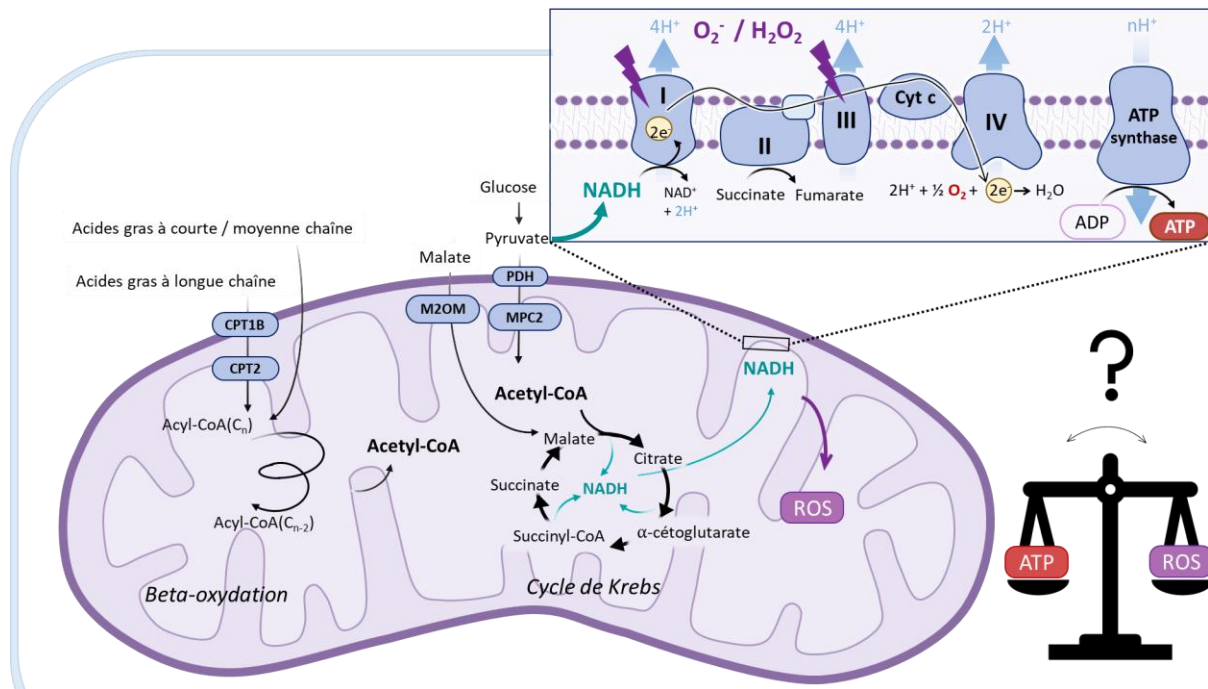


Figure 8 : schématisation simplifiée des grandes fonctions mitochondriales et production de ROS.

Représentation de la β -oxydation, du cycle de Krebs, et de la chaîne respiratoire. La production ATP est indiquée en rouge. Par simplification, seul le NADH est annoté comme substrat de la chaîne respiratoire. **CI** : NADH-ubiquinone oxydoréductase. **CII** : succinate-ubiquinone oxydoréductase. **Rectangle bleu clair** : coenzyme Q. **CIII** : cytochrome bc1. **Cyt c** : cytochrome C. **IV** : cytochrome c oxydase. **ATP synthase** : complexes F₀-F₁. PDH : pyruvate déshydrogénase. **MPC2** : transporteur mitochondrial du pyruvate. **M2OM** : transporteur mitochondrial du malate/oxoglutarate. **CPT1B – CPT2** : transporteurs des acides gras à longue chaîne dans la matrice mitochondriale. **ROS** : espèces réactives de l'oxygène.

La production d'ATP peut donc être modulée à différents niveaux : par la quantité d'oxygène disponible dans l'environnement proche, la quantité de métabolites réduits (NADH, FADH₂), les substrats glucidiques et lipidiques disponibles pour l'activation des complexes, la β -oxydation et le cycle de Krebs, et la quantité d'ADP disponible. L'efficacité de la mitochondrie à produire de l'ATP varie selon la proportion du flux de protons effectivement utilisée pour la phosphorylation oxydative. Un LEAK élevé signifie une baisse du rendement ATP produit par rapport à l'O₂ consommé, et donc diminue l'efficacité (Mitchell 1961 ; Rolfe and Brand 1996). La consommation d'oxygène et production d'ATP étant déterminantes dans le maintien d'une activité physique importante en apnée, les mammifères et oiseaux marins présentent des adaptations musculaires et mitochondriales en relation avec leur comportement de plongée. Par exemple, la proportion des différentes fibres musculaires (I versus II, classifiées selon le mouvement, la réponse aux stimuli nerveux, et le métabolisme associé) dans les muscles de

nage varie selon le type de nage des animaux. Les phoques de Weddell et communs, qui réalisent des plongées longues, avec une faible fréquence de coups de nageoire, présentent une plus grande proportion de fibres de type I. A l'inverse, les otaries présentent plus de fibres de type II, associées à un exercice explosif, ce qui concorde avec des plongées plus courtes avec une plus grande fréquence de coups de nageoire (Kanatous et al. 2003 ; Watson et al. 2003). Aussi, chez certains mammifères plongeurs comme les phoques communs et les otaries, le volume mitochondrial est supérieur à ceux des mammifères terrestres, probablement à l'origine d'une production d'ATP et consommation d'oxygène plus importante en plongée (Kanatous et al. 1999 ; Watson et al. 2003).

Plus finement, des modifications de l'efficacité mitochondriale ont également été mises en évidence suite à l'expérience de plongées en apnée. Une étude chez les éléphants de mer du nord a montré une efficacité de phosphorylation oxydative plus élevée chez des adultes par rapport aux juvéniles, probablement en réponse à une exposition régulière aux apnées prolongées (Chicco et al. 2014). De la même façon, des jeunes manchots acclimatés à la plongée présentent une efficacité mitochondriale de couplage 30 à 40% supérieure à celle de juvéniles au moment du sevrage (Roussel et al. 2020). La consommation d'oxygène et production d'ATP sont alors optimisées à l'échelle cellulaire, autorisant des plongées plus longues.

Cependant, des changements dans l'efficacité de couplage et la force proton motrice sont à l'origine de la production d'autres molécules à effet potentiellement délétère sur les cellules, les espèces réactives de l'oxygène, ou ROS.

iii. Espèces réactives de l'oxygène et adaptations physiologiques au stress oxydant

Le stress oxydant correspond à l'ensemble des dommages moléculaires suite à l'interaction des ROS avec les éléments cellulaires (ADN, protéines, lipides), pouvant aller jusqu'à l'apoptose. Les ROS sont des molécules et radicaux libres dérivés de l'oxygène, c'est-à-dire des espèces chimiques neutres ou chargées, caractérisées par un électron libre ou « célibataire » sur leur orbitale externe. Le précurseur des ROS est l'anion superoxyde (O_2^-), intermédiaire de la réduction de l' O_2 par un électron, ayant lieu au niveau des mitochondries. La dismutation des anions superoxydes donne le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), réaction catalysée par le super oxyde dismutase (SOD). Le peroxyde d'hydrogène possède un fort pouvoir oxydant, et est capable de traverser les membranes biologiques. Il peut être ensuite

d'une ischémie de reperfusion, ce qui favorise la production de ROS. Aussi, la mitochondrie est elle-même responsable de 90% des ROS produits, au niveau des complexes I et III de la chaîne respiratoire et ce, d'autant plus que la force proton motrice et le couplage sont importants (Korshunov et al. 1997 ; Barja 2007). Par conséquent, mammifères et oiseaux marins, réalisant régulièrement des plongées prolongées en apnée, seraient particulièrement exposés au stress oxydant et à ses conséquences cellulaires. De nombreuses études ont étudié les dommages oxydatifs et le niveau de défenses antioxydantes chez ces animaux. Les conclusions sont que phoques et manchots ne présentent pas de dommages oxydatifs supérieurs à leurs congénères terrestres, mais présentent un niveau de défenses antioxydantes plus élevé, notamment de glutathion, GST, ou de catalase (Murphy and Hochachka 1981; Wilhelm Filho et al. 2002; Zenteno-Savín et al. 2002; Vázquez-Medina et al. 2006, 2007; Zenteno-Savin et al. 2010; Stier et al. 2019). Plus encore, cette hausse du niveau de défenses antioxydantes a été rapportée comme une réponse immédiate à l'apnée chez l'éléphant de mer du nord (Vázquez-Medina et al. 2011c). Bien que les mécanismes de la réponse adaptative au stress oxydant restent flous, cette hausse des défenses pourrait être un exemple de convergence évolutive chez les animaux plongeurs, notamment les cétacés, les pinnipèdes, les siréniens, et les sphéniciformes, en lien avec une transition d'un mode de vie terrestre à marin (Yim et al. 2014 ; Foote et al. 2015).

iv. Adaptations comportementales

Outre les adaptations physiologiques aux apnées prolongées répétées, oiseaux et mammifères marins présentent aussi des adaptations comportementales qui contribuent à maximiser la durée de plongée aérobie et à réduire la dépense énergétique et la consommation d'oxygène.

Par exemple, le coût du déplacement dans l'eau (hors recherche alimentaire) est minimisé par des déplacements en légère profondeur, quelques mètres sous la surface. Cela réduit la force de frottement qui augmente à cause de la houle, et donc l'effort de nage, la force de friction étant cinq fois moins forte en profondeur (Skrovan et al. 1999). Aussi, les mammifères marins adaptent leur comportement de plongée selon leur flottabilité, ou « buoyancy » en anglais, c'est-à-dire leur densité par rapport à celle de l'eau. Une flottabilité négative par rapport à l'eau permet à l'animal de « couler », et de descendre en profondeur sans donner de coups de nageoire, et donc d'économiser énergie et oxygène. Le passage à une flottabilité négative

est possible par exemple par compression de la cage thoracique lors de la descente, ce qui est possible très tôt au cours de la plongée lorsque les poumons sont vides. Par conséquent, de nombreux mammifères marins expirent avant de commencer à plonger (Williams et al. 2000 ; Davis and Weihs 2007).

Enfin chez les oiseaux marins, des comportements réduisant le coût de la recherche alimentaire et de la dépense énergétique ont aussi été recensés, cohérents avec la théorie de stratégie optimale de fourragement, ou « optimal foraging theory » (Mangel and Clark 1986 ; Stephens 1987). Par exemple, des cas de chasse coopérative ont été rapportés chez le Gorfou de Moseley (*Eudyptes chrysocome moseleyi*), mais aussi chez le manchot du Cap (*Spheniscus demersus*), ce qui augmenterait la probabilité de capture pour un même effort de nage (Tremblay and Cherel 1999 ; McInnes et al. 2017). Aussi, il a été montré chez le manchot royal (*Aptenodytes patagonicus*) et le gorfou macaroni (*Eudyptes chrysolophus*) que les animaux anticipent la profondeur de la plongée à venir suivant le succès de capture de la précédente, une manière de maximiser la rencontre de proies et minimiser les coûts de la plongée (Tessier and Bost 2020).

b. S'émerger : exposition à un milieu changeant et pauvre en ressources

Si les mammifères et oiseaux marins passent une grande partie de leur temps en mer, ces derniers reviennent tout de même à terre de manière plus ou moins fréquente et plus ou moins longue. La plupart des oiseaux et phoques subantarctiques et antarctiques s'émergent à terre ou sur la banquise pour deux périodes, la reproduction et la mue. Dans les deux cas, ces événements sont énergétiquement coûteux, d'autant plus qu'ils sont couplés à une période de jeûne, la grande majorité de ces espèces se nourrissant en mer (Le Boeuf and Laws 1994 ; Kooyman et al. 2000 ; Beltran et al. 2018). Aussi, le milieu terrestre est moins tamponné que le milieu marin, ce qui se traduit par de plus grandes variations environnementales, et la sortie de l'organisme de sa zone de thermoneutralité (« Thermoneutrality zone » ou « TNZ » en anglais). La TNZ correspond à la plage de températures pour lesquelles le coût métabolique associé à la thermorégulation est à son minimum (Kingma et al. 2012). En dehors de cette plage, les animaux sont en hypothermie ou en hyperthermie, ce qui augmente leur dépense énergétique (thermogenèse) ou dissipation de chaleur (thermolyse), mais permet cependant d'éviter les effets délétères comme la déshydratation, les dommages cellulaires, et les effets

à long terme sur la survie et la reproduction (Hansen 2009 ; Alsharif 2022). Par conséquent, comme indiqué en Figure 10, toute sortie de la TNZ est à l'origine d'une augmentation de la dépense énergétique, ce qui risque d'accroître le déficit énergétique pendant ces phases d'émersion (Guinet et al. 1998 ; Crocker et al. 2001). Ce supplément énergétique est d'autant plus marqué que les oiseaux et phocidés subantarctiques et antarctiques muent dans un environnement polaire, aux contraintes environnementales importantes et variations marquées et amenées à croître, comme décrit précédemment.

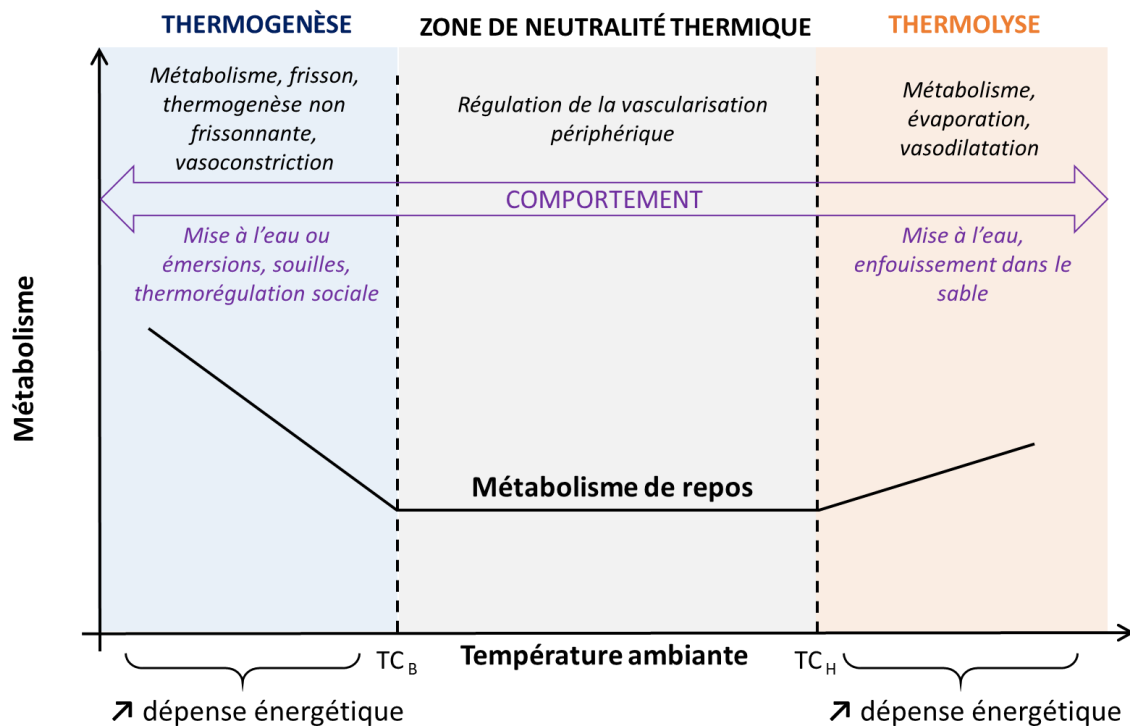


Figure 10 : représentation schématique de la relation entre la température ambiante et le métabolisme de repos chez un phocidé antarctique ou subantarctique.

La zone de TNZ est indiquée en gris, pour une température entre la température critique basse (TC_B) et haute (TC_H). La dépense énergétique augmente hors de cette zone, par thermolyse ou thermogenèse. En réponse à cette hausse du métabolisme de repos, des modifications physiologiques (ex : modifications de la vascularisation périphérique) et / ou comportementales peuvent être observées (Favilla et al. 2021).

Cette restriction calorique couplée à des événements énergétiquement coûteux dans un environnement changeant est à l'origine d'un déséquilibre de la balance énergétique (gains et réserves énergétiques *versus* dépenses). En réponse à cela, différentes adaptations de ces

animaux sont déjà bien connues et décrites. Equilibrer cette balance constitue notamment un élément central dans l'évolution des traits d'histoire de vie des Phocidés (Encadré 1).

Encadré 1 : balance énergétique et évolution des traits d'histoire de vie chez les Phocidés (Bowen et al. 2009)

La balance énergétique correspond à l'équilibre en les gains et réserves énergétiques *versus* les dépenses. Lorsque les dépenses dépassent les gains / réserves, sur une durée suffisante allant jusqu'à épuisement des réserves, il y a risque de décès faute d'apport énergétique. La balance énergétique est particulièrement changeante chez les animaux alternant les milieux de vie, ou vivant dans des environnements saisonniers marqués, c'est-à-dire faisant régulièrement face à des phases de forte disponibilité *versus* absence de ressources (hibernants, oiseaux migrateurs, Phocidés et oiseaux marins). Dans le cas des Phocidés, l'équilibrage de cette balance énergétique influence fortement l'évolution de leurs traits d'histoire de vie. Leur cycle de vie implique deux émergences annuelles longues, pendant la reproduction et la mue, sur leur site de colonie, très éloigné du site de recherche alimentaire. Cette ségrégation spatiale est à l'origine de différentes stratégies, comme le jeûne pendant la lactation, compensé par un métabolisme réduit, la constitution de réserves importantes en amont, et un sevrage rapide du juvénile (quelques semaines).

i. Adaptations physiologiques aux contraintes du milieu terrestre

Face à une balance énergétique négative pendant ces phases d'émergence, un moyen largement employé chez les mammifères et oiseaux polaires est la constitution de réserves graisseuses en amont. Les phocidés possèdent une couche de graisse sous cutanée particulièrement épaisse en début de reproduction et de mue, qui diminue au fur et à mesure que les animaux jeûnent et se reposent sur leurs réserves, ce qui se traduit par une perte importante de leur masse corporelle (23% chez les éléphants de mer du sud, 25% chez les éléphants de mer du nord, 17% chez les phoques gris *Halicheorus grypus* (Slip et al. 1992b ; Worthy et al. 1992 ; Beck et al. 2003)). La même chose est rapportée chez différents oiseaux comme le manchot royal, le manchot empereur et le manchot Adélie qui perdent environ 45% de leur masse initiale pendant la mue (Penney 1967 ; Groscolas 1978 ; Cherel et al. 1994). Entre autres, ces réserves lipidiques constituent aussi une bonne isolation thermique permettant de faire face à de mauvaises conditions environnementales (Scholander et al.

1950 ; Worthy et al. 1992) et de répondre à un stress hydrique par la production d'eau métabolique (Ortiz et al. 1978 ; Costa et al. 1986).

ii. Adaptations comportementales aux contraintes d'un environnement changeant et pauvre en ressources

On observe une large variabilité de type d'émersion selon les espèces, et selon l'événement concerné. Chez les Pinnipèdes, pendant la reproduction, on distingue les animaux se reposant sur des réserves définies (« capital breeders ») et ceux qui apportent de l'énergie au fur et à mesure (« income breeders ») (Boness and Don Bowen 1996 ; Avery and Zinn 2023). Les Otariidés sont plutôt des « income breeders » qui alternent recherche alimentaire en mer et allaitement sur plusieurs mois à plusieurs années (Martin 1984 ; Bowen 1991 ; Horning and Trillmich 1997). Chez les Phocidés, certaines espèces comme le phoque commun et le phoque de Weddell se rapprochent de ce type de comportement puisque les juvéniles plongent très tôt en compagnie de leur mère pendant la lactation, permettant ainsi un apport énergétique en même temps que la réalisation d'un événement coûteux pour la femelle (Burns et al. 1999 ; Bekkby and Bjørge 2000 ; Jørgensen et al. 2001 ; Sato et al. 2003a). D'un autre côté, le phoque gris, le phoque à capuchon, et les éléphants de mer sont plutôt des « capital breeders ». Les femelles restent à terre pendant toute la période d'allaitement qui dure environ trois semaines, reposant exclusivement sur leurs réserves corporelles. Après la lactation, la femelle repart en mer, et le juvénile est laissé seul pendant une période de post-sevrage de plusieurs semaines (Bowen 1991 ; Boness and Don Bowen 1996 ; Kovacs 2009 ; Kovacs and Lavigne 2011). Chez les manchots, le fonctionnement par paire permet aux parents de se relayer pendant l'incubation et l'élevage du jeune, octroyant le renflouement des réserves corporelles et l'apport de nourriture au(x) juvénile(s) (Ancel et al. 2013).

Pendant la mue, deuxième phase d'émersion coûteuse, la même diversité est observée chez les Pinnipèdes et les oiseaux, même si tous doivent effectivement sortir de l'eau pour renouveler leur pelage et leurs plumes (Boily 1995). Certains restent émergés plusieurs semaines et jeûnent strictement, comme les éléphants de mer (Worthy et al. 1992 ; Boyd et al. 1993 ; Carlini et al. 1999 ; Liwanag et al. 2012) ou les manchots (Adams and Brown 1990). D'autres alternent avec des courts séjours en mer, pour chasser ou éviter un inconfort thermique trop important, comme les Phoques de Weddell ou d'autres espèces arctiques comme le phoque barbu (*Erignathus barbatus*), le phoque tacheté (*Phoca largha*), et le

phoque annelé (*Pusa hispida*) (Sato et al. 2003b ; Thometz et al. 2023). Par conséquent, quel que soit l'événement physiologique concerné, la durée d'émersion et le repos sur les réserves corporelles ne sont pas équivalents selon le groupe ou les espèces impliquées.

Au-delà de la fréquence et de la durée d'émersion, des comportements spécifiques à terre limitant les pertes énergétiques sont rapportés. Chez les manchots, comme chez les phocidés, une réduction de l'activité locomotrice ainsi qu'une hausse du temps de repos sont rapportées pendant la mue et la reproduction, tant que la condition corporelle n'est pas critique (Kovacs 1987a, b; Worthy et al. 1992; Robin et al. 1998). De la même façon, on retrouve différents comportements de thermorégulation, comme l'évitement du contact avec l'eau froide pendant la mue en zone subantarctique (Nadel 1984 ; Paterson et al. 2021), et, au contraire, une mise à l'eau plus régulière en cas de mauvaises conditions météorologiques en zone antarctique, comme chez les phoques de Weddell (Sato et al. 2003b). On rapporte également le choix d'habitats herbeux ou dans des souilles à l'abri du vent chez les éléphants de mer du sud (Chaise et al. 2018, 2019), ou encore des comportements d'agrégation et thermorégulation sociale chez cette même espèce ainsi que chez le manchot royal et empereur (Le Maho et al. 1976 ; Fahlman et al. 2005).

Évoluer en alternance entre le milieu marin et le milieu terrestre représente un défi et se traduit par des adaptations physiologiques et comportementales marquées, partagées par de nombreux oiseaux et mammifères marins. Ces adaptations sont variables, parfois coûteuses, mais souvent nécessaires notamment très tôt dans la vie de ces animaux. Comment les juvéniles, immatures, aux contraintes supplémentaires, évoluent-ils dans les environnements extrêmes ?

Essentiel 2 : adaptations de l'organisme à son environnement

- On distingue l'**adaptation** comme processus, invisible et extrêmement lent, **des adaptations**, traits phénotypiques résultant de la sélection naturelle, dans un environnement donné, à un moment donné. Les adaptations représentent des **réponses aux contraintes** lorsque l'organisme est en état de **stress** physiologique (contraintes trop importantes qui réduisent sa valeur sélective)
- Les adaptations peuvent reposer sur le **génotype**, mais aussi inclure **la plasticité phénotypique, l'acclimatation** en réponse aux contraintes environnementales, et par conséquent ne sont pas constantes entre les individus, et parfois chez un seul et même individu (**variabilité** intra et inter-individuelle)
- Les adaptations peuvent être **physiologiques** ou **comportementales** en réponse à des contraintes bien définies
- On définit un événement extrême comme tout événement biologique particulier plaçant l'organisme en état de stress (exemple, la lactation, au cours de laquelle le déséquilibre énergétique est marqué chez les « capital breeders »)
- Certains organismes s'exposent régulièrement à des milieux extrêmes, cumulé à des événements eux-mêmes extrêmes. C'est le cas des Phocidés et oiseaux marins alternant régulièrement des séjours en mer et à terre. Le milieu marin les place en conditions **d'hypoxie**, et le milieu terrestre, caractérisé par l'absence de ressources, les place en **balance énergétique négative** (forte demande énergétique pour la reproduction, la mue, mais pas d'apports caloriques) et les expose à une plus **grande variabilité météorologique**
- Chez les mammifères et oiseaux marins, on observe une multitude d'adaptations physiologiques et comportementales au **milieu marin hypoxique** (meilleures défenses antioxydantes et efficacité mitochondriale des muscles de nage, optimisation de l'effort en plongée) **et au milieu terrestre** (réserves de graisse, thermorégulation sociale, hypométabolisme)

III. Enjeux, contraintes et adaptations spécifiques du stade juvénile

A. Stade juvénile : un stade critique mais à l'enjeu évolutif déterminant

a. *Les juvéniles assurent le maintien de l'espèce par leur survie et leur reproduction*

En dynamique des populations, l'un des processus fondamentaux assurant la durabilité des espèces est l'ajout de nouveaux individus aux populations. Ce processus, aussi appelé « recrutement », comprend trois étapes principales : soit i) la production de descendants, ii) leur survie et iii) leur établissement (Clobert et al. 1990 ; Ringsby et al. 1998 ; Oli and Dobson 1999). Un faible recrutement, déclenché par une mortalité élevée des juvéniles et/ou un échec de la colonisation - un faible succès de reproduction - peut induire une diminution de la taille de la population et entraîner l'extinction des espèces (Oli and Dobson 2003).

Chez les petits mammifères, la reproduction des juvéniles (c.-à-d. la première reproduction des jeunes individus) est essentielle, car elle représente la prochaine génération et la durabilité des espèces. Par conséquent, leur survie a plus d'impact que celle des adultes (Cole 1954 ; Dobson 1995 ; Oli and Dobson 1999). Plus précisément, les changements d'âge à la maturité sont censés être le principal mécanisme de variation des cycles de population. Un faible taux de survie des petits et des juvéniles, en plus des échecs de reproduction, est associé à un faible taux de croissance de la population (Oli and Dobson 2001, 2003).

Chez les grands mammifères, comme les plongeurs, l'effet est plus nuancé. En effet, il a été montré que le taux de croissance de la population Atlantique de phoques gris était plus influencé par la survie des adultes aptes à se reproduire que par celle des juvéniles (Harwood and Prime 1978). La même chose a été rapportée pour la population d'éléphants de mer du sud de la colonie de Marion Island (Pistorius and Bester 2002), ainsi que celle des éléphants de mer du nord (Condit et al. 2014). Cependant, la survie des juvéniles et leur fécondité peuvent jouer de manière indirecte sur le taux de croissance de la population. La capacité des juvéniles à se reproduire plus ou moins tôt est très dépendante de leur croissance et de leur maturation, elle-même dépendante de la disponibilité en ressources. Une étude chez le phoque commun a montré qu'une hausse de la compétition pour les ressources et de la prédation sur les juvéniles, et donc de la survie et de la fécondité des juvéniles, était à l'origine

d'une augmentation de l'âge de la classe des femelles reproductrices, signifiant une réduction du recrutement des jeunes en reproducteurs. Cela a été corrélé avec le déclin de la population de phoques communs entre 1992-1996. Par conséquent, si la survie des juvéniles ne joue pas directement sur le taux de croissance d'une population, elle influence la structuration des classes d'âge, et peut exercer un effet régulateur à plus long terme (Don Bowen et al. 2003 ; Fath 2018).

En plus de la contribution démographique directe de cette classe d'âge, les conditions rencontrées pendant la période juvénile sont souvent déterminantes dans l'expression des traits d'histoire de vie entre individus, pouvant avoir des répercussions sur la dynamique de populations (Albon et al. 1987 ; Lindström 1999 ; Monaghan 2008). Cet effet peut effectivement être d'autant plus important en cas de mauvaises conditions environnementales, selon que l'organisme a déjà été exposé de manière précoce à des contraintes ou non (Gaillard et al. 2000 ; Reid et al. 2003).

b. Les conditions du début de vie conditionnent les futures réponses aux contraintes

Depuis quelques dizaines d'années, l'idée que le génotype ne constitue pas l'unique clef du phénotype a émergé. Notamment, le concept de plasticité phénotypique, ou encore d'épigénétique (modifications pérennes de la régulation de l'expression de certains gènes sous effets environnementaux) a été beaucoup discuté. Dans cet élan, est venue l'idée de « réponse adaptative prévisible », ou « Predictive Adaptive Response (Gluckman et al. 2005a). Cette théorie propose que l'environnement de début de vie conditionnerait les futures réponses des individus face à des contraintes similaires, mais aussi que la valeur sélective d'un individu pourrait varier selon que son environnement de début vie soit favorable ou non, et / ou en décalage avec son environnement une fois adulte (Encadré 2). Différentes observations appuient cette théorie, comme l'effet de la densité de population sur la taille des nouveau-nés (Pacoureaux et al. 2017) ou leur activité et déplacements au sevrage (Nagel et al. 2021). Dans cette logique, et dans l'optique de changements environnementaux de plus en plus importants, et l'occurrence plus fréquente d'événements extrêmes intenses, le stade juvénile serait un stade décisif dans l'adaptation des populations au réchauffement climatique, et, plus généralement, aux nouvelles contraintes qui peuvent s'exercer sur une population (augmentation de la pression de prédation, diminution des ressources...).

Encadré 2: la « Predictive Adaptive Response » (Gluckman et al. 2005a)

La « Predictive Adaptive Response » est la théorie selon laquelle l'environnement de début de vie conditionne les réponses physiologiques et comportementales aux contraintes de l'environnement au stade adulte. Deux grands scénarios existent :

1. Un environnement favorable en début de vie permettra toujours une meilleure réponse des organismes, et une meilleure valeur sélective, quel que soit l'environnement au stade adulte (« silver spoon hypothesis »)
2. Le **décalage** entre environnement de début de vie et au stade adulte est toujours à l'origine d'une baisse de valeur sélective, par mal adaptation (même s'il s'agit d'un environnement qualifié de favorable au stade adulte)

L'effet des conditions de début de vie sur la valeur sélective de l'individu s'exprimeraient alors majoritairement à l'âge adulte.

c. La période juvénile est une période vulnérable aux nombreux défis

- i. La survie des juvéniles est fortement réduite et dépendante des performances parentales

Les enjeux de la survie des juvéniles sur la durabilité et l'aptitude des espèces à faire face à des contraintes ultérieures est extrêmement contrastée par leur grande vulnérabilité. D'une part, quel que soit le milieu considéré, les jeunes individus sont menacés par des prédateurs, car souvent, ils ne sont pas en mesure de les éviter ou de se défendre. Aussi, ils sont particulièrement vulnérables aux conditions environnementales difficiles (Geiser et al. 2019). Par exemple, dans les environnements saisonniers, les températures extrêmes sont l'un des premiers défis auxquels les jeunes doivent faire face : de nombreux mammifères et oiseaux nouveau-nés sont nus et incapables de produire suffisamment de chaleur endogène pour maintenir une température corporelle élevée et constante (Dawson and Evans 1960 ; Morrison 1962). Chez les petits mammifères, les jeunes individus sont partiellement endothermiques à la naissance et ce, jusqu'à ce qu'ils atteignent une masse corporelle d'environ un tiers de leur taille adulte. Cela les rend particulièrement vulnérables aux facteurs de stress environnementaux, à cause des pertes de chaleur et d'énergie élevées (Geiser et al. 2019). Un autre inconvénient de l'immaturité juvénile est le manque d'expérience dans le

comportement de recherche alimentaire. Chez de nombreuses espèces comme les petits mammifères ou les oiseaux, les parents fournissent de la nourriture à la progéniture dans leurs premiers stades de la vie, rendant les juvéniles dépendants et vulnérables à la mort par famine si leurs parents sont incapables de leur fournir suffisamment de nourriture, comme par exemple pendant les périodes de pénurie alimentaire (Geiser 2008). Aussi, le sevrage est caractérisé par le départ de la mère et l'arrêt de l'apport énergétique aux jeunes. Les juvéniles doivent alors être autonomes dans la recherche alimentaire. Chez certaines espèces, comme les éléphants de mer ou le manchot royal, les juvéniles restent quelques semaines à terre avant leur premier voyage en mer, et se reposent alors sur leurs réserves corporelles. Pendant cette période, ils peuvent perdre jusqu'à 70% de leur masse corporelle selon la durée du post-sevrage (Cherel et al. 1987 ; Carlini et al. 2000, 2001). Une fois en mer, leurs performances de plongée et leur survie sont très dépendantes de leur condition corporelle à la mise à l'eau, donc de leur condition au sevrage, et de la performance des parents.

Enfin, lorsque l'activité de recherche alimentaire démarre, le manque d'expérience influence également le succès de capture lors des premières tentatives, non sans conséquence sur la condition corporelle des individus et leur survie (Marchetti and Price 1989 ; Orgeret et al. 2019a).

ii. Assurer une reproduction est avantageux mais particulièrement coûteux en énergie

En plus d'assurer leur survie, les juvéniles doivent également assurer leur reproduction suffisamment tôt, sachant qu'un fort succès de reproduction nécessite des attributs spéciaux, coûteux en énergie. Tout d'abord, la force de l'individu, partiellement liée à la taille, est importante lorsque l'on considère le succès reproducteur. Il est connu chez de nombreuses espèces que les mâles forment des groupes hiérarchisés avant la reproduction. Par exemple, c'est le cas du lérot d'Europe (*Eliomys quercinus*), dont l'accès aux femelles est réduit pour les individus trop faibles ou trop petits (Vaterlaus-Schlegel 1997). C'est également le cas chez les éléphants de mer mâles, qui constituent des harems de plusieurs dizaines de femelles et se battent pour en obtenir la garde. Par conséquent, les mâles les plus forts ont presque exclusivement accès à la reproduction (Campagna et al. 1993 ; Le Boeuf and Laws 1994). Enfin, des juvéniles en bonne condition corporelle sont également caractérisés par un âge de maturation sexuelle plus précoce, ce qui peut représenter un avantage considérable dans l'augmentation de la fitness individuelle (Altmann and Alberts 2005).

- iii. Assurer croissance, prise de masse et maturation physiologique est également coûteux mais décisif pour faire face aux contraintes de l'environnement

Les processus de croissance, de développement, et de maturation physiologique, exigent une grande quantité d'énergie. Or, le taux de croissance dépend fortement de l'énergie stockée ou de la disponibilité des ressources (Altmann and Alberts 2005). Chez les petits mammifères en possibilité de recherche alimentaire, la croissance est limitée à la période où la disponibilité en végétaux et leur activité coïncident (Armitage et al. 1976 ; Webb 1979). Des défis similaires sont également décrits chez les oiseaux migrateurs. Par exemple, une diminution des ressources hivernales peut être à l'origine de retards de croissance, et donc dans la migration printanière, avec des conséquences drastiques sur le succès reproducteur, puisque chaque jour de retard après l'arrivée du premier mâle sur les lieux de reproduction entraîne une diminution des chances de se reproduire avec succès (Cooper et al. 2015). Chez d'autres espèces dont les juvéniles passent brutalement d'un milieu terrestre à un milieu aquatique, comme les éléphants de mer, la période de post-sevrage est décisive dans l'entraînement et la maturation physiologique avant le départ en mer (Modig et al. 1997 ; Vázquez-Medina et al. 2011a ; Piot et al. 2024). Cette maturation physiologique et cet entraînement, décisifs dans le succès de chasse et la survie lors du premier voyage, couplée à une période de jeûne, rendent cette période de post-sevrage extrêmement critique pour les juvéniles.

En lien avec cette dernière idée, une difficulté supplémentaire pour les juvéniles est la nécessité de faire face aux contraintes auxquelles les adultes font face très tôt dans leur vie, et cela avant même la fin de leur croissance et / ou de leur maturité physiologique. Par exemple, les jeunes hibernants font face aux températures extrêmes de l'hiver et à l'absence de ressources quelques mois voire quelques semaines après leur naissance. De la même façon, les jeunes éléphants de mer partent en mer entre trois et cinq semaines après le sevrage (Modig et al. 1997). Peu de temps est alors disponible avant les premières plongées extrêmes, et l'ontogenèse des adaptations pas toujours possible (Encadré 3).

Par conséquent, être un juvénile dans un environnement extrême semble être particulièrement difficile. La croissance et la maturation physiologique, leur succès reproducteur, et leur survie face aux événements extrêmes, représentent des challenges marqués et fortement dépendants des facteurs biotiques et abiotiques. Dans ce contexte, il apparaît essentiel de déterminer les adaptations des juvéniles, et dans quelle mesure la

plasticité de ces réponses physiologiques et comportementales leur permet de faire face aux contraintes avec succès.

Encadré 3: ontogenèse des adaptations ; inné ou acquis ? (Rodenburg 2014 ; Crews et al. 2014)

L'ontogenèse des adaptations correspond à la mise en place des réponses physiologiques et comportementales permettant à un individu de subvenir à ses besoins dans un environnement considéré. Une première classification de ces réponses a été proposée, en distinguant réponse innée (base génétique, réponse en place dès la naissance) ou acquise (apprentissage et mise en place plus tardive au cours de la vie de l'individu). Cependant, peut-on qualifier « d'innée » une adaptation dont les bases génétiques sont présentes à la naissance, mais déclenchée suite à une stimulation extérieure ?

Une idée moins dichotomique sur cette mise en place des adaptations est la suivante : la base génétique prédispose, et les conditions du milieu façonnent les adaptations. Par exemple, les voies de réponse à l'hypoxie sont bien présentes génétiquement parlant chez les Phocidés (séquences codant pour les facteurs de transcription HIF1 α ou Nrf2), mais sont activées lors des premières apnées.

Une caractérisation plus nuancée et progressive de l'ontogenèse des adaptations physiologiques et comportementales serait alors un continuum entre l'expression précoce ou tardive du trait adaptatif, ainsi que la part de contribution de différents facteurs à cette expression, qu'ils soient génétiques ou environnementaux.

B. Adaptations spécifiques et plasticité des juvéniles face aux environnements et événements extrêmes

a. Adaptations spécifiques des juvéniles aux événements et environnements extrêmes

i. Phase préparatoire ou conditionnement

Une solution permettant de faire face à un événement ou à un environnement extrême, comme l'hiver chez les hibernants, ou le premier voyage en mer chez les jeunes éléphants de mer ou manchots, est d'anticiper par une phase préparatoire à l'événement. Cela peut passer par une modification du taux de croissance, de la maturation, ou de l'entraînement par exemple. En effet, en tant que trait d'histoire de vie, le taux de croissance est lié à diverses composantes de la fitness d'un individu, notamment la survie, l'âge de la

première reproduction et la fécondité (Altmann and Alberts 2005). Les taux de croissance et de développement ne sont pas des traits stationnaires et peuvent être modifiés en réponse aux changements environnementaux. Par exemple, la croissance peut être accélérée, comme réponse compensatoire à la diminution de la photopériode, comme à l'approche de l'hiver (Abrams et al. 1996). Cette réponse compensatoire permet notamment aux juvéniles nés tardivement dans la saison de rattraper le retard de prise de masse par rapport à ceux nés plus tôt, comme illustré en Figure 11 (Dmitriew and Rowe 2005 ; Mahler et al. 2018).

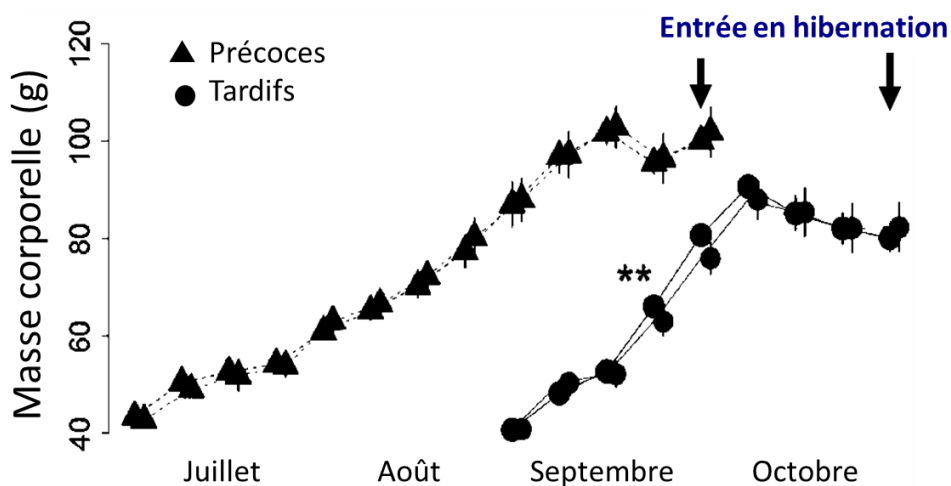


Figure 11 : Changement de prise de masse corporelle entre des jeunes lérots d'Europe selon leur date de naissance.

Prise de masse entre deux portées de lérots d'Europe nés tôt (triangles noirs) ou tard (ronds noirs) dans la saison. N = 6 par groupe, les valeurs correspondent à la moyenne \pm SE. Les juvéniles nés tardivement dans la saison présentent une prise de masse plus rapide que ceux nés tôt dans la saison (Mahler et al. 2018). Les ** indiquent une prise de masse significativement plus rapide pour le groupe tardif ($P < 0,001$).

Concernant la transition entre deux milieux très différents, comme pour les jeunes Phocidés, le post-sevrage fait office de phase préparatoire. En effet, pendant cette période, les juvéniles s'exposent aux premières apnées, augmentent progressivement leur activité et leur nombre de mises à l'eau, avant le premier grand départ (Modig et al. 1997 ; Piot et al. 2024). Ainsi, il a été montré que les premières expositions à la plongée et le jeûne pendant cette période stimulaient les défenses antioxydantes chez les jeunes Phocidés comme les éléphants de mer du nord (Figure 12) et les phoques à capuchon (*Cystophora cristata*), ce qui pourrait

représenter un avantage pour le voyage en mer suivant (Vázquez-Medina et al. 2011b, a, c). L'augmentation de la quantité d'hémoglobine et myoglobine, reflet des réserves d'oxygène, ainsi que la maturation musculaire, ont été rapportées pendant cette phase de post-sevrage chez d'autres Phocidés comme les éléphants de mer du nord (Figure 12) et les phoques gris (Noren et al. 2001, 2005 ; Lewis et al. 2001 ; Moore et al. 2014). Une hausse de la concentration en hémoglobine et en myoglobine a aussi été rapportée chez le manchot empereur, bien qu'elle soit moins rapide et importante que chez les Phocidés, probablement en raison de l'absence d'immersions pendant le post-sevrage (Ponganis et al. 1999).

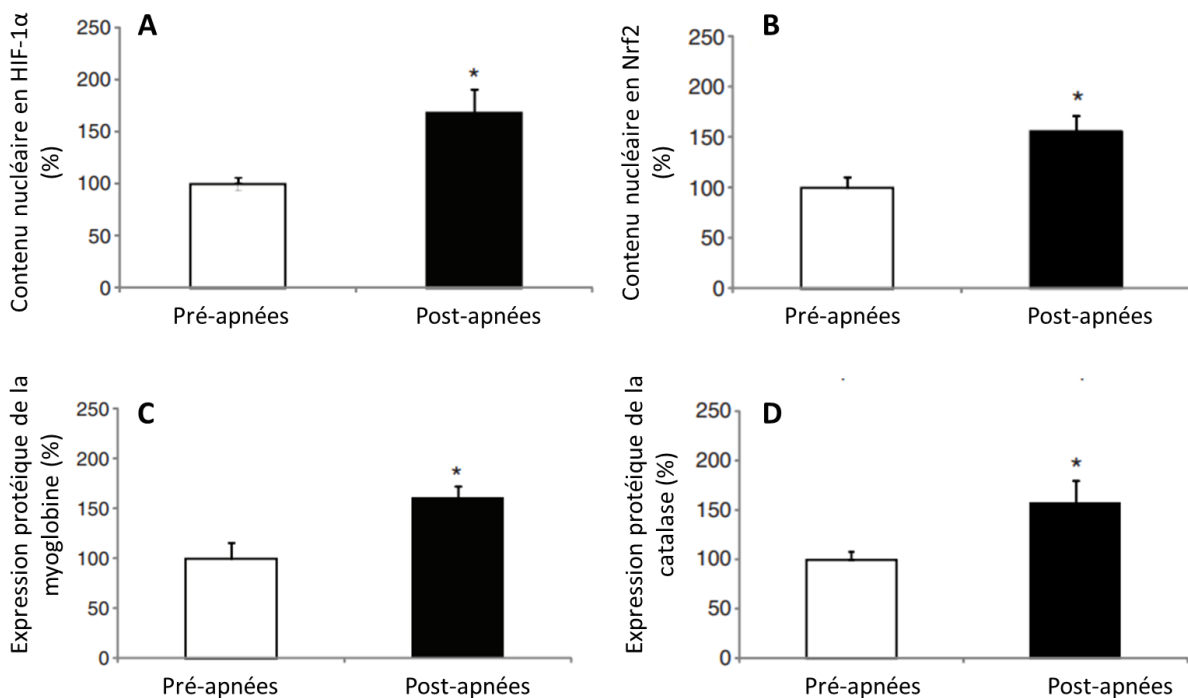


Figure 12 : stimulation des réponses adaptatives à l'hypoxie et au stress oxydant après l'exposition à plusieurs apnées chez de jeunes éléphants de mer du nord

Contenu nucléaire en facteur de transcription de la voie de réponse à l'hypoxie (HIF-1 α , A), de la voie de réponse au stress oxydant (Nrf2, B), et quantification des réserves musculaires en oxygène (myoglobine, C) et d'une enzyme antioxydante (catalase, D) avant et après apnées volontaires répétées. Les valeurs correspondent aux moyennes \pm SE, pour N = 6. Repris et adapté de Vázquez-Medina, Soñanez-Organis, et al. 2011c.

ii. Adaptations progressive lors de l'exposition à l'environnement / événement extrêmes

Lorsque la phase préparatoire est absente ou insuffisante pour l'ontogenèse des adaptations ou encore l'apprentissage d'un comportement de recherche alimentaire, on peut observer une mise en place progressive alors que l'exposition aux contraintes est déjà en cours. Cette exposition stimule l'ontogenèse des adaptations retrouvées chez les individus plus vieux. Par exemple, les jeunes manchots macaronis passent brutalement du milieu terrestre au milieu marin, dans une eau froide, ce qui les expose à l'hypothermie, au regard des réserves corporelles qu'ils possèdent à ce stade. Il a été observé une acclimatation progressive au froid au fur et à mesure des premières immersions de juvéniles, et un maintien progressif de l'homéothermie après plusieurs heures, par augmentation de leur thermogenèse (Barré and Roussel 1986). De la même façon, si on s'intéresse au comportement de plongée chez les oiseaux et mammifères plongeurs, les capacités des juvéniles sont très différentes de celles des adultes. Les juvéniles ont un métabolisme plus élevé que les adultes, de par leur petite taille, des réserves moindres en oxygène, et une densité moins élevée, ce qui augmente leur effort de nage (Ponganis 2015). Lors du premier voyage en mer, des plongées plus courtes et moins profondes sont rapportées chez les jeunes manchots empereurs et royaux, ainsi que chez les jeunes éléphants de mer du sud. Au fur et à mesure de ce premier voyage, la profondeur et la durée des plongées augmentent progressivement, comme illustré en Figure 13 (Ponganis et al. 1999 ; Orgeret et al. 2016, 2019a). La même chose a été rapportée à propos des performances de vol de jeunes oiseaux migrateurs, qui augmentent progressivement au cours du premier voyage, en lien avec une hypertrophie musculaire progressive et la diminution du vol battu au profit du vol plané (Bishop et al. 1996 ; Rotics et al. 2016).

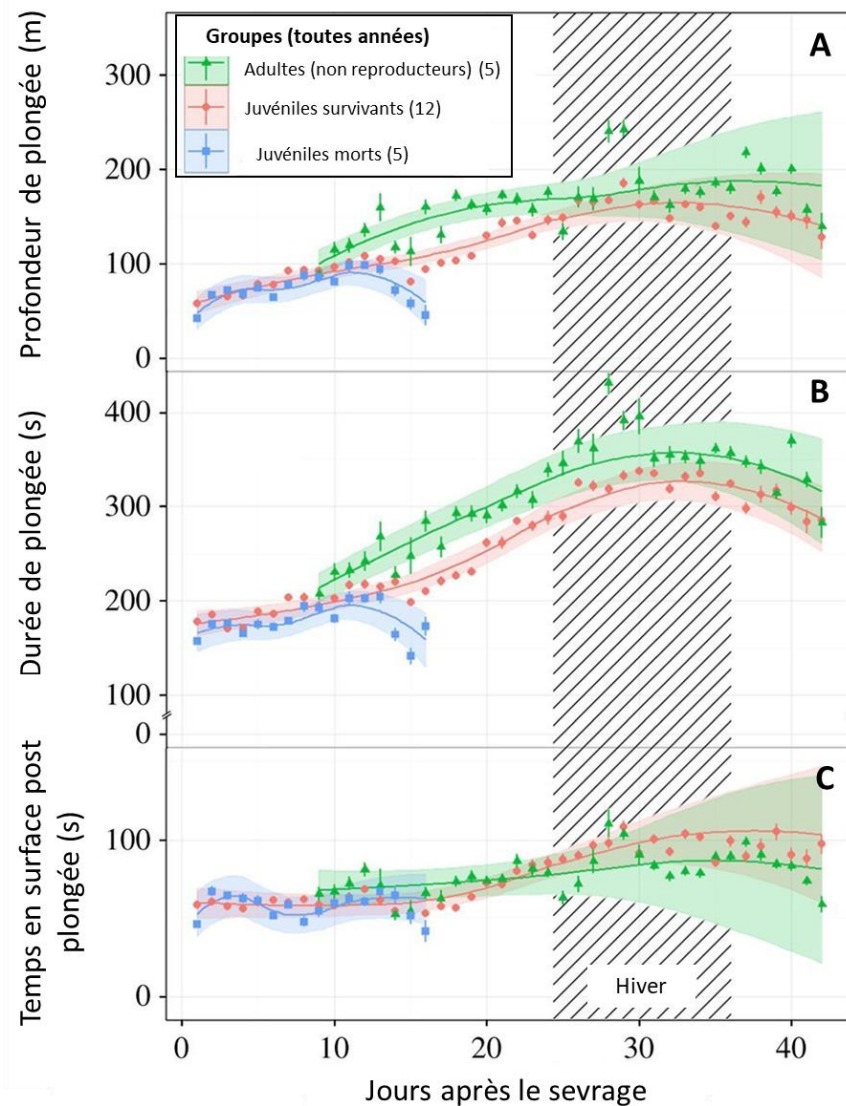


Figure 13 : évolution des paramètres de plongées au cours du premier voyage en mer de jeunes manchots royaux

Moyenne hebdomadaire (\pm SE) de la profondeur de plongée (A), de la durée de plongée (B) et de la durée post plongée (C), avec lignes de valeur ajustées de 2 SE (ruban de couleur) (Orgeret et al. 2016).

Enfin, l'inexpérience en recherche alimentaire, en comportement de chasse, ou encore dans la connaissance des zones riches en ressources peuvent être palliée par l'apprentissage des plus vieux. Chez les espèces migratrices comme la cigogne blanche, les juvéniles occupent une place à l'arrière du groupe et suivent les adultes (Mueller et al. 2013 ; Rotics et al. 2016). Aussi, au début de leur premier voyage, il a été montré que les jeunes manchots royaux suivent les

adultes, ce qui leur permet de repérer les zones riches en ressources déjà identifiées par les plus anciens (Orgeret et al. 2019c).

Les juvéniles présentent bien des adaptations spécifiques aidant à pallier leur immaturité, mais cela est-il suffisant face à cette multitude de contraintes, qui peuvent être fluctuantes ?

b. Importance de la flexibilité et de la plasticité phénotypique des juvéniles face aux fluctuations environnementales

Les contraintes auxquelles font face les juvéniles sont nombreuses, et peuvent être très changeantes. Leur survie et leur fécondité sont très dépendantes de leur croissance et de leur état corporel, lui-même dépendant des ressources disponibles, des conditions environnementales, des capacités nourricières des parents, mais aussi du moment t, de la prédation, de la compétition, etc. Cette multitude de contraintes, variables à l'échelle individuelle, sont compensées par une importante plasticité dans la réponse des juvéniles. Par exemple, nous avons dit précédemment que les jeunes manchots royaux suivaient les adultes au début de leur premier voyage. Cependant, si l'orientation commune vers une zone riche en ressource est un gain de temps et d'énergie, chasser au milieu d'adultes aux performances supérieures représente une forte compétition et une contrainte pour les juvéniles, diminuant ainsi leur succès de capture. Cette même étude a montré que dès l'automne, les trajectoires des juvéniles diffèrent de celles des individus reproducteurs, et une orientation plutôt basée sur des indicateurs environnementaux, probablement pour limiter cette compétition pour la ressource, est observée (Orgeret et al. 2019c).

Aussi, la condition corporelle au sevrage diffère entre les individus selon les performances des parents pendant le premier stade de vie. Chez les éléphants de mer du sud, il a été montré que le comportement au cours du premier voyage en mer différait selon la condition corporelle des juvéniles. Par exemple, un retour à terre plus précoce a été noté chez les individus en meilleure condition corporelle au cours du voyage, passant d'une flottabilité négative à positive (Orgeret et al. 2019a). Et cette variabilité comportementale selon l'état corporel est observable même avant le premier voyage ; pendant le post-sevrage, l'activité physique et les mises à l'eau des juvéniles augmentent progressivement (Figure 14). Cependant, il a été montré que des juvéniles avec un indice de masse corporelle plus faible, donc avec moins de réserves, présentaient une activité plus intense et des mises à l'eau plus

fréquentes et plus tôt que les juvéniles en meilleure condition. Cette intensification des entraînements pourrait pallier aux faibles réserves, ne permettant pas un jeûne trop long et un entraînement progressif sur plusieurs semaines, sous réserve d'une baisse du taux survie pendant le premier voyage (Piot et al. 2024). Enfin, chez les mammifères hibernants, on rapporte un usage flexible de la torpeur journalière (hypométabolisme associé à une baisse de la température corporelle), qui favorise l'accumulation des réserves avant l'hiver, en économisant quotidiennement énergie et eau. Cet usage quotidien est d'autant plus important que les animaux naissent tard dans la saison, et donc que leur temps pour mettre en place ces réserves avant leur premier hiver est réduit (Giroud et al. 2014 ; Mahlert et al. 2018). La même chose est observée pour la thermorégulation sociale chez ces animaux. En effet, les jeunes hibernants peuvent combiner torpeur et thermorégulation sociale en formant des groupes, ce qui limite les pertes thermiques, réduit la baisse de température corporelle pendant la torpeur, et, par conséquent, limite la perte de masse pendant l'hiver. Cet usage flexible et cette combinaison de deux stratégies d'économie d'énergie peuvent représenter un avantage considérable pour les juvéniles n'ayant pas eu suffisamment de temps pour constituer des réserves suffisantes (Jefimow et al. 2011 ; Nowack and Geiser 2016).

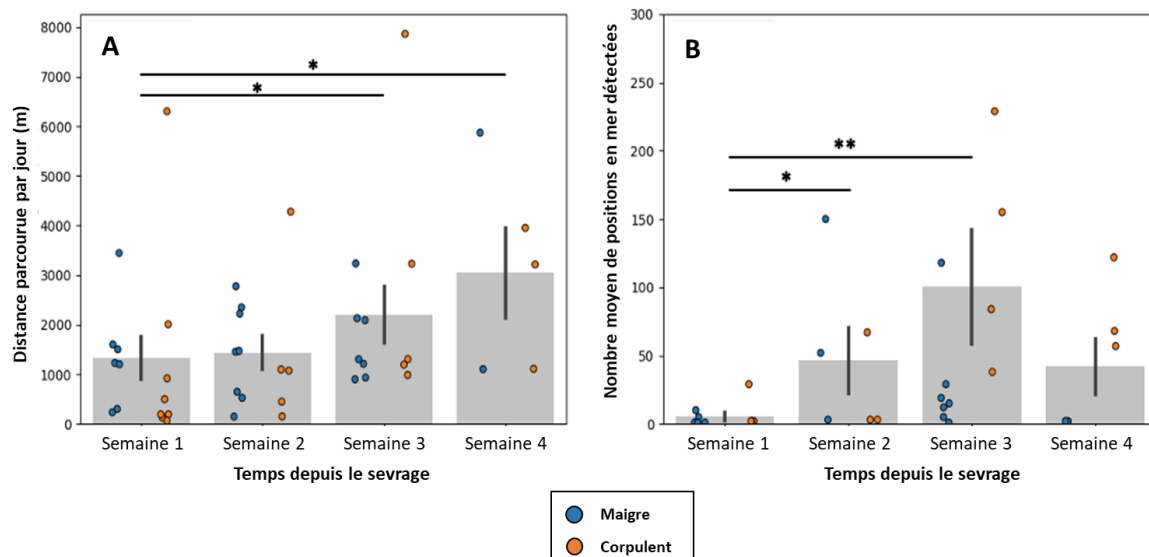


Figure 14 : changement hebdomadaire dans l'activité de jeunes éléphants de mer du sud femelles au cours du post-sevrage.

Distance journalière moyenne parcourue de la semaine 1 à la semaine 4 après le sevrage (A, SE moyen) et nombre moyen de position en mer de la semaine 1 à la semaine 4 après le sevrage (B, SE moyen) pour 17 individus. Les juvéniles en moins bon état au sevrage (ronds bleus) sont plus actifs plus tôt au cours du post-sevrage que ceux en bonne condition corporelle (ronds oranges) (Piot et al. 2024).

Enfin, à l'échelle cellulaire, on rapporte aussi une flexibilité dans la consommation d'oxygène et la production d'énergie selon les conditions environnementales et physiologiques des juvéniles. Par exemple, chez les manchots royaux juvéniles, qui jeûnent pendant la période de post-sevrage, la synergie entre la restriction calorique et l'hypothermie entraîne une augmentation de l'efficacité du couplage mitochondrial dans le muscle squelettique, contribuant fortement à limiter les pertes énergétiques et la déplétion des réserves corporelles (Monternier et al. 2014). Par conséquent, cette plasticité mitochondriale leur permet de faire face non seulement au jeûne mais aussi à de mauvaises conditions environnementales.

A la fin de cette partie, il apparaît que les juvéniles, bien que particulièrement vulnérables à ce stade de leur vie, possèdent des adaptations spécifiques, mais surtout une plasticité de réponse qui élargit l'éventail de conditions biotiques et abiotiques auxquelles ils peuvent faire face. Dans la suite de ce texte, nous allons nous intéresser au cas particulier d'un mammifère plongeur en milieu polaire, dont le cycle de vie cumule l'intégralité des challenges et contraintes mentionnés ci-dessus, et auxquels les juvéniles sont exposés très tôt. Il s'agit du modèle de cette thèse, l'éléphant de mer du sud.

Essentiel 3: stade juvénile, enjeux et contraintes

- Le recrutement des juvéniles en nouveaux reproducteurs en fait un stade critique dans le **maintien** d'une population
- Les conditions expérimentées en début de vie sont déterminantes dans l'ontogenèse des adaptations et dans les réponses face aux futures contraintes. D'après le concept de la Predictive Adaptive Response, les juvéniles seraient donc le stade le plus critique dans l'acquisition d'une plasticité de réponse aux contraintes, éventuellement transmissible, et donc d'une meilleure adaptation long terme à l'échelle de la population
- Le stade juvénile est un stade particulièrement **vulnérable** en raison de leur immaturité physiologique (thermogenèse, immunité) et comportementale (recherche alimentaire), ce qui les place en grande dépendance du / des parent(s). Leur condition au sevrage dépend alors fortement des performances parentales. De plus, ils peuvent expérimenter très tôt dans leur vie des événements extrêmes (hibernation, jeûne, migration), dans des environnements extrêmes (transition brusque au milieu aquatique, conditions hivernales rudes), sans forcément le temps de s'y préparer
- Les juvéniles présentent des adaptations comportementales et physiologiques spécifiques face aux contraintes rencontrées. Particulièrement, leur plasticité de réponse leur permet d'équilibrer les différents postes de dépense énergétique (croissance, maturation physiologique, entraînement...), comme en combinant l'utilisation de certaines stratégies d'économie d'énergie (torpeur, thermorégulation sociale...)

IV. Les éléphants de mer du sud, une espèce modèle de choix

A. Biologie générale

L'éléphant de mer du sud (*Mirounga leonina*) est un mammifère marin appartenant au groupe des pinnipèdes. Il ne doit pas être confondu avec l'éléphant de mer du nord (*Mirounga angustirostris*). Les deux espèces n'ont pas du tout la même répartition, et la deuxième étant beaucoup plus accessible que la première (côte de la Californie), la quasi-totalité des études physiologiques ont été réalisées sur l'éléphant de mer du nord, pour des raisons logistiques. Cependant, étant donné que les conditions de vie sont très différentes (milieu polaire *versus* tropical), il est intéressant de comparer les deux espèces ainsi que leurs adaptations, surtout dans l'idée de prendre en compte la variabilité environnementale. L'Encadré 4 résume les principales caractéristiques biologiques et géographiques de ces deux espèces, et la Figure 15 leur répartition.

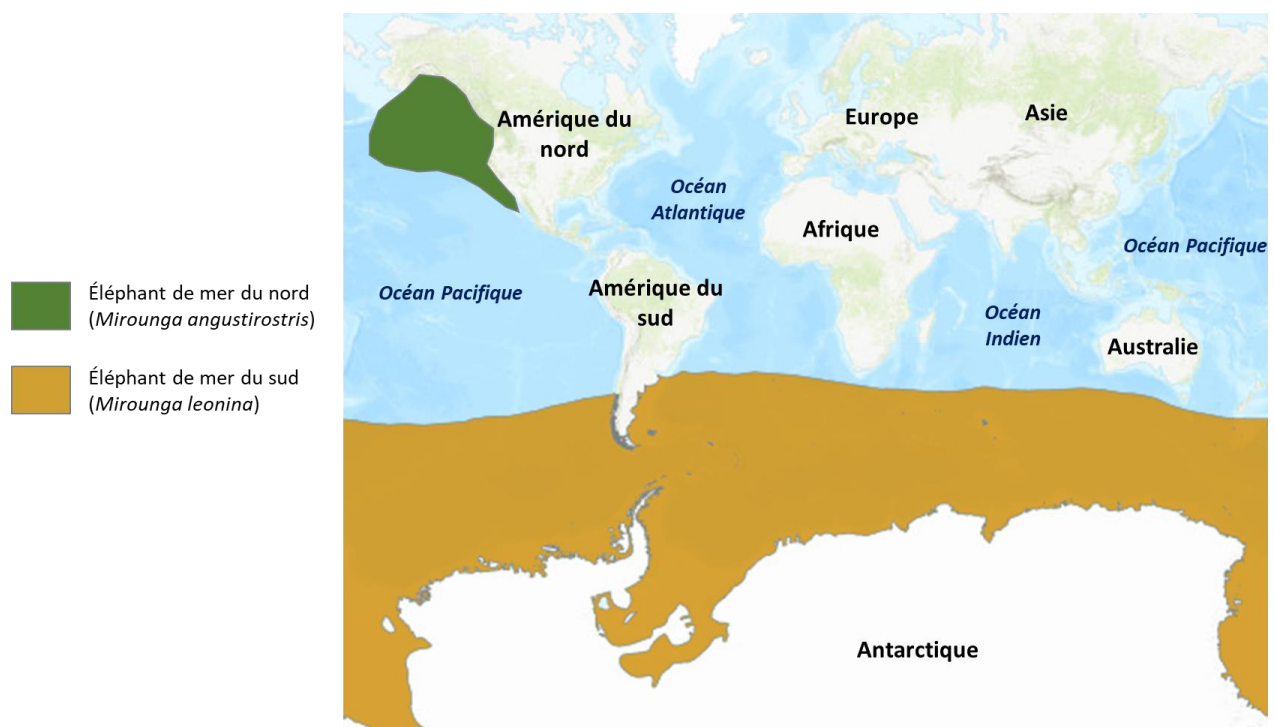


Figure 15 : répartition mondiale des éléphants de mer du nord (*Mirounga angustirostris*, vert) et du sud (*Mirounga leonina*, marron).

D'après Luis Huckstad 2015 et Greg Hofmeyr 2015, The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2024-1

a. Répartition mondiale et état des populations

Les éléphants de mer du sud sont une espèce polaire dont la distribution s'étale dans l'océan austral (Figure 15). On distingue quatre grandes populations : une proche de l'Argentine, une dans le secteur Atlantique, une dans l'Océan Indien, et une dans le Pacifique. Les colonies reproductrices principales sont la Géorgie du Sud avec 50% des naissances (Boyd et al. 1996), les îles Kerguelen avec 21% (Authier et al. 2011) et la Péninsule Valdes, les îles Heard et Macquarie avec 5% chacune (Lewis et al. 1998 ; Slip and Burton 1999). Leur zone de recherche alimentaire se situe entre les 40° et le continent Antarctique, où ils se nourrissent principalement de poissons (Myctophidés, Notonidés) et calmars (Brown et al. 1999 ; Piatkowski et al. 2002 ; Bradshaw et al. 2003 ; Cherel et al. 2008 ; Newland et al. 2011). Leur site de recherche alimentaire peut se situer jusqu'à 5000 km de leur site d'émersion (Bester and Pansegrouw 1992 ; Jonker and Bester 1998 ; Campagna et al. 1999 ; Bailleul et al. 2007). Les éléphants de mer du sud sont actuellement sur Liste Rouge des espèces menacées en France, ainsi que sur la « IUCN Red List of Threatened Species » à l'échelle mondiale. Si la population mondiale est considérée stable aujourd'hui, on recense environ 325 000 individus matures aujourd'hui, contre 650 000 au milieu des années 90 (SCAR EGS 2008). Les causes de ce déclin sont encore débattues, et diffèrent selon les populations, mais les hypothèses principales sont une diminution de recrutement des juvéniles et de la survie de femelles adultes, en raison des variations climatiques interannuelles et de la disponibilité en ressources (Pistorius et al. 2004, 2011 ; McMahon and Burton 2005 ; Bruyn and Nico 2009). Leurs seuls prédateurs sont marins : majoritairement les orques (Reisinger et al. 2011), et les Léopards des mers de façon plus anecdotique sur les juvéniles (Gwynn 1953).

b. Vision générale du cycle de vie

Les éléphants de mer du sud présentent un cycle de vie particulier. Ils alternent des phases de plongées prolongées en mer associées à la recherche alimentaire, en apnée (80% de leur temps), et des phases à terre pendant la reproduction et la mue (Hindell et al. 1991 ; Le Boeuf and Laws 1994).

Ces différentes phases de vie représentent en réalité des événements extrêmes dans des environnements extrêmes, que ce soit en mer ou à terre. Pendant les phases de plongée, les

animaux sont en apnée, donc en hypoxie, alors qu'ils chassent en profondeur (jusqu'à 2000 m), ce qui requiert une bonne perfusion et un approvisionnement en oxygène des muscles de nage. Parmi l'ensemble des Phocidés, ce sont les plongeurs les plus extrêmes en termes de profondeur et de durée, devant les éléphants de mer du nord (Encadré 4).

Lorsqu'ils sont à terre en post-sevrage, pour la reproduction ou pour la mue, ils passent plusieurs semaines à jeuner avant de repartir plusieurs mois en mer (Le Boeuf and Laws 1994 ; Lewis et al. 2001). En plus d'une restriction calorique, les événements à terre sont des événements physiologiquement coûteux, faisant de ces périodes à terre de vrais challenges énergétiques et physiologiques (Boyd et al. 1993 ; Chaise et al. 2018, 2019). Les éléphants de mer du sud font donc continuellement face à ces challenges physiologiques, quelle que soit la partie de leur cycle considérée.

Encadré 4 : éléphant de mer du sud, éléphant de mer du nord, quelles différences ?

Les éléphants de mer du sud et du nord diffèrent par leur répartition géographique, et, par conséquent, par les contraintes environnementales qu'ils expérimentent, et la phénologie des grands événements physiologiques caractéristiques de leur cycle (mue, reproduction). La taille et durée des différentes phases varient également. Les informations sont résumées dans le tableau ci-dessous.

	Éléphant de mer du sud (<i>Mirounga leonina</i>)¹	Éléphant de mer du nord (<i>Mirounga angustirostris</i>)²
Répartition	Océan Austral, Atlantique sud Pacifique sud, Indien et Antarctique Environnement polaire	Canada, Mexique, États-Unis
Population mondiale	IUCN Red List of Threatened Species 325 000 individus matures	IUCN Red List of Threatened Species 110 000 individus matures
Caractéristiques des adultes	Mâle : 2 – 4 tonnes ; 4,5 m de long Femelles : 400 – 900 kg ; 2,8 m de long	Mâle : 1,8 – 2,5 tonnes ; 4,2 m de long Femelle : 488 – 710 kg ; 2,6 m de long
Maturité sexuelle	Mâles : 6 – 10 ans Femelles : 3 – 6 ans	Mâles : 7 – 9 ans Femelles : 3 – 4 ans
Longévité	Mâles : 10 ans (îles Marion) Femelles : 13 ans (îles Marion), record de 23 ans (îles Macquarie)	Mâles : 14 ans Femelles : 21 ans
Performances de plongées	200 – 700 m en moyenne, record à 2133 m 20 à 30 min en moyenne, jusqu'à 2 h	520 m en moyenne, jusqu'à 1700 m 23 min en moyenne, jusqu'à 1 h
Moment et durée de mue	Décembre – Février 25 à 32 jours	Avril – Août 4 à 5 semaines
Moment et durée de reproduction	Septembre – Octobre Lactation : 3 semaines	Décembre – Mars Lactation : 25 jours
Caractéristiques à la naissance	40 – 46 kg ; 1,3 m de long	30 – 40 kg ; 1,25 m de long
Durée du post-sevrage	3 semaines	3 à 5 semaines

1 : (Boyd et al. 1993; Le Boeuf and Laws 1994; Hindell et al. 1999; Biuw et al. 2003; Bruyn and Nico 2009; McIntyre et al. 2010)

2 : (Reiter et al. 1981; Deutsch et al. 1990, 2023; Le Boeuf and Laws 1994; Robinson et al. 2012; Condit et al. 2014)

B. Des plongeurs extrêmes

a. Des phases de recherche alimentaire en présence d'une quantité limitée d'oxygène

Les éléphants de mer du Sud présentent des profils de plongée particulièrement extrêmes, puisqu'ils descendent autour de 300 m de profondeur, parfois jusqu'à 2000 m, pendant 20 à 30 min, parfois jusqu'à 1 h. Au cours de ces plongées en apnée, la disponibilité en oxygène est limitée, et semble peu compatible avec une activité de recherche alimentaire, de chasse, caractérisée par une nage active en profondeur (Hindell et al. 1991).

Un premier monitoring pendant les plongées des animaux a montré que ces animaux sont en bradycardie au cours de ces plongées (Hindell et al. 1992a), puisqu'ils présentent une fréquence cardiaque 3 à 4 fois plus faible en plongée que lorsqu'ils sont à terre ou en surface, ce qui est une bonne indication d'un état d'hypométabolisme. Un des objectifs initiaux de ce projet était de caractériser plus précisément cet état général d'hypométabolisme au cours de la plongée, *via* des mesures de respirométrie lorsque l'animal est immergé. Cependant, pour des raisons de non obtention des autorisations éthiques, cet aspect expérimental n'a pas pu être conduit sur le terrain, et l'approche métabolique à l'échelle du corps entier retirée du projet.

Si une adaptation générale de l'organisme semble être un état d'hypométabolisme et de réduction de la consommation d'oxygène à grande échelle, la question se pose également à l'échelle musculaire, tissu particulièrement sollicité pendant les plongées, et le plus gros consommateur d'oxygène en activité, comme décrit dans plus haut. On rapporte déjà chez cette espèce que le stock d'oxygène est privilégié au niveau des muscles par une concentration élevée en myoglobine, qui fixe l'oxygène localement, directement accessible aux muscles (Somo et al. 2015). Qu'en est-il de la consommation de cet oxygène à l'échelle de la machinerie cellulaire musculaire et des mitochondries ? Comme décrit plus haut, la mitochondrie représente la source d'énergie la plus efficace, ainsi que la plus grande consommatrice d'oxygène. Si les adaptations mitochondriales à la plongée ont déjà été étudiées chez l'éléphant de mer du nord, cela n'a pas été fait chez l'éléphant de mer du sud, qui évolue en milieu polaire, et fait face à des contraintes encore plus importantes.

b. Des phases en surface à l'origine d'une ischémie de reperfusion et de production de stress oxydant

Malgré l'enchaînement de plongées longues et répétées en apnée, les éléphants de mer passent seulement quelques minutes en surface entre chaque plongée, ce qui se traduit par un apport brutal et rapide d'oxygène aux tissus, et cela pendant plusieurs mois de suite (Hindell et al. 1991). L'exposition aux hypoxies suivie de reperfusion lors des phases de remontée à la surface est donc considérable à l'échelle d'un voyage, et à terme, de la vie de l'animal qui passe au total les deux tiers de sa vie en mer (Le Boeuf and Laws 1994). Comme décrit précédemment, ces reperfusions massives sont à l'origine de la production de ROS par différentes voies cellulaires dont mitochondriales. La balance antioxydante des éléphants de mer du nord a déjà été étudiée dans le contexte de jeûnes prolongés en post-sevrage et pendant la mue, deux périodes de stress pour l'organisme, et suite à une exposition ponctuelle à l'apnée (Vázquez-Medina et al. 2011c; Wright et al. 2020). Cependant, l'effet à long terme des plongées, et une possible adaptation de la barrière antioxydante sur le long terme, ainsi que la mise en place de ces adaptations, manquent à nos connaissances sur l'éléphant de mer du sud.

C. Des phases à terre aux contraintes énergétiques importantes

a. Période de reproduction

Au cours de leur vie, les éléphants de mer du sud font des séjours prolongés à terre. Chaque année, ces animaux passent deux fois quelques semaines à terre, pour la reproduction et la mue. Pour la reproduction, qui a lieu en septembre-octobre aux îles Kerguelen, les mâles arrivent en premier, suivis des femelles. Celles-ci mettent bas un seul petit (cas de grossesses gémellaires très rares et létales) puis allaitent le juvénile pendant environ trois semaines, avant de repartir en mer. Cette période implique la lactation pour les femelles, et les combats pour les mâles, qui s'affrontent quotidiennement pour avoir accès à un harem (Figure 16). Cette période implique alors une dépense énergétique importante chez les adultes, quel que soit le sexe de l'animal, alors qu'ils sont en restriction calorique et reposent exclusivement sur leurs réserves (Laws 1977 ; Le Boeuf and Laws 1994).



Figure 16 : photographies des harems et d'un juvénile juste né sur la plage d'Estacade, îles Kerguelen.

A : pendant la reproduction, les harems comprennent plusieurs dizaines de femelles pour un mâle dominant. Souvent, la densité est telle que les harems se confondent.

B : femelle éléphant de mer du sud et son petit juste après la naissance. La naissance est repérée par l'aspect mouillé du juvénile et son comportement (difficultés à se déplacer, appel de la mère). Souvent, la présence de skuas et pétrels, amateurs du placenta, est également un bon indicateur.

Crédits photos : Laura Charlanne

b. Période de mue

La deuxième période régulière passée à terre chez cette espèce correspond à la mue, qui a lieu aux îles Kerguelen entre décembre et janvier pour les mâles et entre janvier et février

pour les femelles. Les animaux renouvellent à la fois leur épiderme et leur pelage (mue drastique), ce qui requiert une vascularisation périphérique importante, et les expose à des pertes thermiques élevées, en faisant un événement particulièrement coûteux avec une perte de 4,7 kg par jour environ (Boyd et al. 1993 ; Richard et al. 2014). En effet, la croissance cellulaire nécessite une température cutanée minimale de 17°C (Feltz and Fay 1966), dans un milieu froid (8.4 ± 2.4 °C) et venteux (8.8 ± 2.7 m/s) (Charlanne et al. 2024), ce qui implique le maintien d'un métabolisme élevé (Kuhn et al. 2009 ; Walcott et al. 2020 ; Thometz et al. 2023). Par conséquent, il a toujours été admis que les animaux limitent ces pertes énergétiques en évitant le contact avec l'eau froide (autour de 5°C) et la recherche alimentaire pendant la mue, ce qui implique un jeûne strict.

Parmi les Phocidés, en plus des éléphants de mer du sud, seules trois autres espèces présentent une mue drastique : l'éléphant de mer du nord, *Mirounga angustirostris* (Worthy et al. 1992), le phoque moine d'Hawaï (*Monachus schauinslandi*) (Atkinson et al. 1994), et le phoque moine de Méditerranée (*Monachus monachus*) (Badosa et al. 2006). Cependant, l'éléphant de mer du sud est la seule espèce à muer en environnement polaire, froid et venteux, et donc la seule à expérimenter des contraintes énergétiques aussi importantes.



Figure 17 : jeunes mâles éléphants de mer en mue sur le site d'Estacade, îles Kerguelen

L'avancée de la mue est quantifiable par la surface encore recouverte par l'ancien pelage, à l'aspect usé, marron sur la photo. Le pelage neuf est plus clair, gris sur l'individu au premier plan, et d'aspect plus soyeux. Crédit photo : Laura Charlanne

c. Contraintes de l'émergence en lien avec le milieu

En plus du coût énergétique de ces événements physiologiques en émergence, ces phases se déroulent à terre, signifiant une exposition à des conditions environnementales changeantes, dans un milieu bien moins tamponné que le milieu marin. Si les animaux s'affranchissent de la prédation en milieu terrestre, ils s'exposent néanmoins à des variations plus importantes et quotidiennes de température, d'humidité, et de vitesse du vent, dans un environnement polaire (Testut et al. 2006).

Le cycle de vie de ces animaux, au stade adulte, représente alors de nombreuses contraintes, de part cette alternance de milieux et ce cumul avec des événements physiologiques coûteux (Figure 18). Qu'en est-il des juvéniles ?

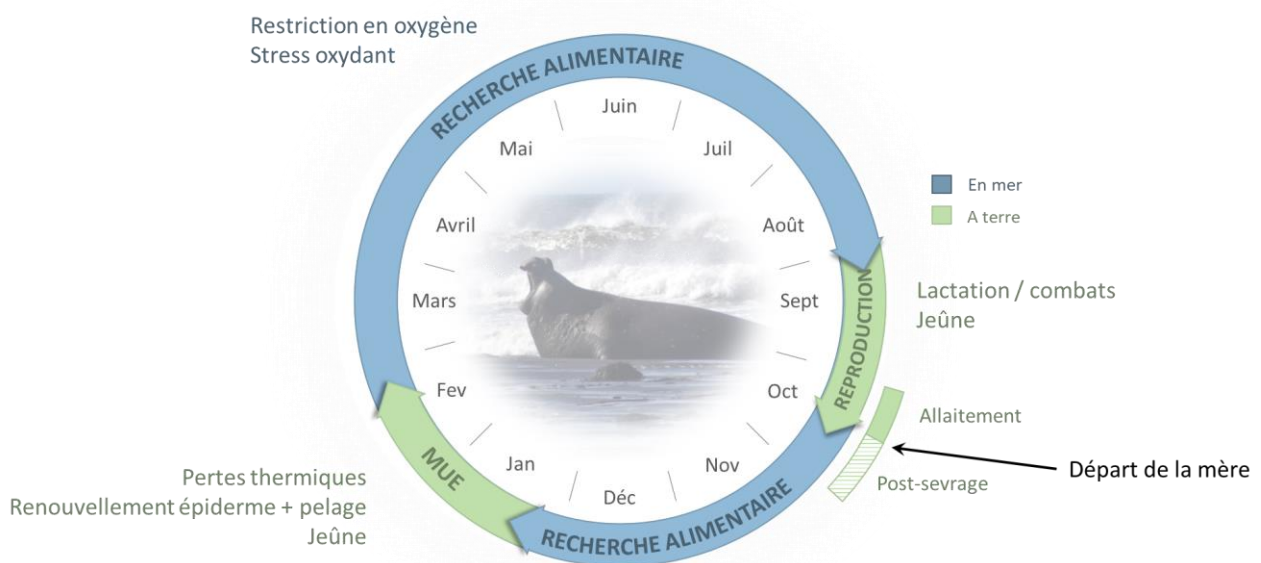


Figure 18 : cycle de vie d'un éléphant de mer du sud adulte mâle ou femelle

Alternance de phases à terre (vert) et en mer (bleu) et contraintes associées chez un adulte éléphant de mer du sud.

D. Cas des juvéniles

Les jeunes éléphants de mer du sud ne sont pas épargnés par ces challenges, bien au contraire. En effet, on observe la même alternance des phases à terre / phases en mer, avec des contraintes équivalentes à celles des adultes, et cela très tôt dans leur vie. Les juvéniles sont allaités pendant trois semaines par la mère, avec un gain de masse entre 50 et 80 kg sur toute la période (Carlini et al. 2000, 2001). Ensuite, après le départ de la mère, ils passent trois semaines à terre, avant d'entamer leur premier voyage en mer (Modig et al. 1997). Cette période à terre, à l'image de celles vécues régulièrement par les adultes, est également une période coûteuse puisqu'elle représente environ trois semaines de jeûne, avec la perte d'environ 1,2 kg/jour (Carlini et al. 2001) au cours de laquelle les animaux restent actifs (baignades, déplacements) mais reposent uniquement sur leurs réserves, elles-mêmes dépendantes de la performance de leur mère et de la durée de la lactation (Modig et al. 1997). De plus, leur condition corporelle au départ du premier voyage est déterminante pour leurs performances de nage et leur survie à ce premier voyage (Orgeret et al. 2019a). Enfin, cette période de post-sevrage est terminée brutalement par le premier départ en mer des juvéniles, directement pour un voyage de plusieurs semaines. Elle est alors décisive dans leur maturation physiologique et leur capacité à faire face aux challenges que représente la plongée (Figure 19). Certains travaux chez les deux espèces d'éléphants de mer ont déjà montré la maturation physiologique décisive que représente cette période, et le jeûne associé : développement de l'hypométabolisme, maturation du système des défenses antioxydantes, maturation des fibres musculaires, changements de composition corporelle avec une perte de la masse adipeuse, activité à terre des juvéniles (Noren et al. 2001 ; Vázquez-Medina et al. 2011c ; Tift et al. 2013 ; Somo et al. 2015) et des adultes éléphants de mer du sud (Modig et al. 1997 ; Carlini et al. 2000 ; Lewis et al. 2001).

Une fois en mer, au cours de leur premier voyage, les juvéniles font des plongées plus courtes et moins profondes que les adultes (quelques centaines de mètres pendant une dizaine de minutes), et, par conséquent, se nourrissent presque exclusivement de krill et de petits copépodes (Newland et al. 2011 ; Lubcker et al. 2017). Les caractéristiques des plongées se rapprochent progressivement de celles des adultes à mesure que le voyage en mer s'écoule, et la taille des proies également (Orgeret et al. 2019a).

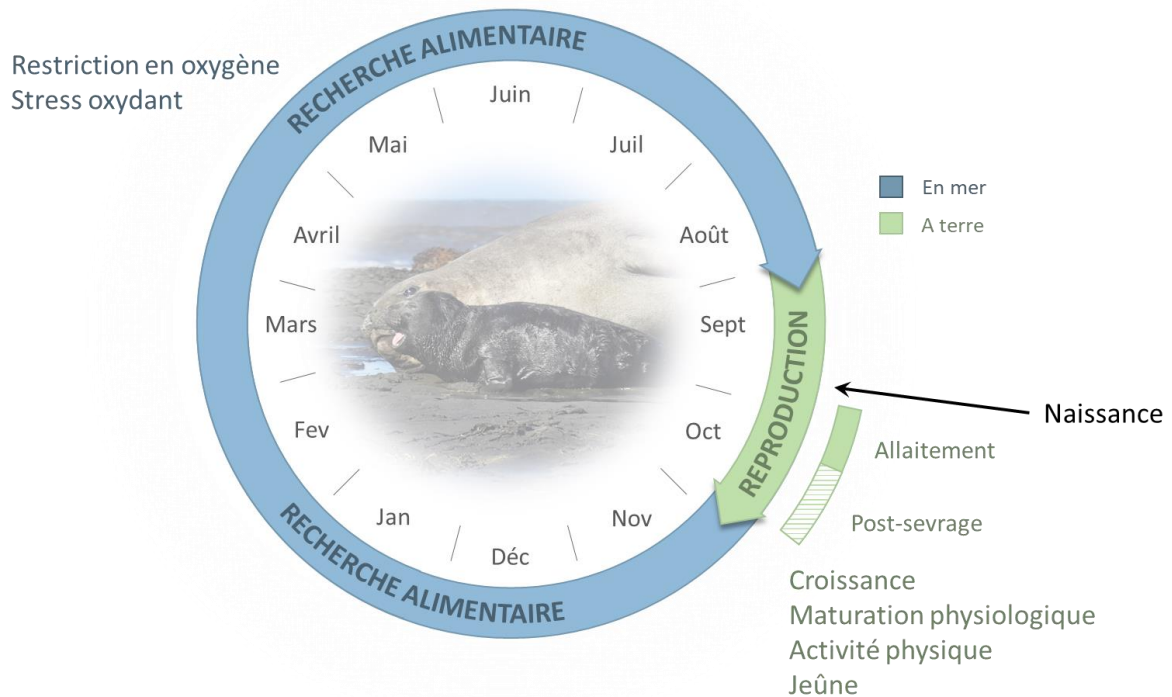


Figure 19 : cycle de vie d'un éléphant de mer du sud juvénile

Alternance de phases à terre (vert) et en mer (bleu) et contraintes associées chez un juvénile éléphant de mer du sud.

Se pose alors la question des stratégies mises en place par ces animaux qui contribuent à leur succès évolutif dans de tels milieux, malgré cette récurrence d'événements stressants physiologiquement. En particulier, la question se pose pour les juvéniles et sur le challenge supplémentaire que représente leur possible immaturité physiologique et comportementale face aux contraintes auxquelles ils font face.

Essentiel 4 : le modèle éléphant de mer du sud

- Les éléphants de mer du sud sont des Mammifères marins, appartenant au groupe des Phocidés, résidant en milieu polaire (océan austral, colonie principale sur l'archipel des Kerguelen)
- Ces mammifères alternent des phases en mer caractérisées par des plongées extrêmes en apnée (jusqu'à une heure à 2000 m) et des phases à terre extrêmement coûteuses (mue, reproduction, post-sevrage) en milieu extrême et sans apport calorique
- En mer, les plongées en apnée impliquent des adaptations physiologiques systémiques (hypométabolisme, défenses antioxydantes) et musculaires (stock d'oxygène sur la myoglobine) déjà bien connues et commune à de nombreux Phocidés
- A terre, la balance énergétique négative est équilibrée par des réserves graisseuses importantes et une limitation des dépenses énergétiques (thermorégulation sociale, limitation des mouvements pendant la reproduction et la mue)
- Le défi est particulièrement marqué pour les juvéniles qui passent brusquement d'un mode de vie terrestre à marin, à l'issue d'un post-sevrage de quelques semaines, sans apport calorique. Leur activité augmente progressivement jusqu'à leur départ. Cette période est critique dans l'ontogenèse des adaptations à l'hypoxie (augmentation de la quantité de myoglobine, maturation musculaire, premières expériences de petites apnées)

Encadré 5 : lacunes actuelles dans notre connaissance des éléphants de mer du sud et de leurs adaptations face aux contraintes et événements extrêmes

- Adaptations physiologiques et comportementales à terre pendant la phase de mue, de reproduction, et de post-sevrage, toutes trois particulièrement coûteuses
- Mise en place des adaptations physiologiques systémiques et locales (musculaires) à l'hypoxie en début de vie, et du rôle de la plongée, et des stress expérimentés dans la stimulation de ces réponses
- Réponse comportementale aux contraintes environnementales pendant les phases d'émersion, avec possibilité de stress thermique dans le contexte du changement climatique

V. Contexte et objectifs de de la thèse

A. Questions et hypothèses

Considérant les contraintes importantes auxquelles sont exposés les éléphants de mer du sud, la fréquence et la durée de ces expositions, que ce soit à terre ou en mer, se pose la question des adaptations physiologiques et comportementales mises en place par ces animaux qui contribuent à leur succès évolutif dans de tels milieux, malgré cette récurrence d'événements stressants physiologiquement. En particulier, la question se pose pour les juvéniles considérant le challenge supplémentaire que représente leur immaturité physiologique et comportementale. De plus, les régions polaires étant exposées à un changement climatique rapide et des événements extrêmes plus récurrents, comprendre l'impact des variations environnementales sur le comportement, la physiologie, et à terme, la survie de ces animaux, est primordial pour envisager les effets d'un changement global sur ces populations.

Dans ce contexte, **l'objectif de cette thèse** de doctorat a été **d'étudier les adaptations comportementales et physiologiques des éléphants de mer du sud aux environnements et événements extrêmes auxquels ils s'exposent tout au long de leur vie**, en incluant 1/ les périodes de déséquilibre énergétique à terre dans un environnement changeant, et 2/ les hypoxies prolongées et répétées pendant la recherche alimentaire. Une attention particulière a été portée à l'effet récurrent de l'exposition à ces contraintes, et à l'ontogenèse de ces adaptations, en s'intéressant à la fois aux juvéniles et aux adultes, ainsi qu'à leur plasticité de réponse.

B. Organisation de la thèse

Dans un premier temps, nous introduirons les différentes méthodes utilisées dans chaque chapitre de ce travail. Ensuite, nous étudierons le comportement à terre des femelles en mue, et leurs stratégies mises en place face aux contraintes énergétiques et environnementales (Chapitre 1, Figure 20). La mue étant un processus particulièrement coûteux et exposant les animaux à des pertes thermiques importantes, il est admis que les

éléphants de mer du sud restent à terre pendant toute la durée de la mue. Par conséquent, leurs déplacements ainsi qu'un possible comportement de prise de boisson ou de nourriture n'avait jamais été étudié jusque-là. Nous avons émis l'hypothèse que les femelles éléphants de mer du sud resteraient à terre, soit dans des souilles (piscines de boue), ou sur la plage, jeûnant strictement, au moins en début de mue, pour minimiser la perte de chaleur. Dans l'éventualité où les animaux passeraient du temps en mer, nous avons examiné si les conditions météorologiques influençaient ce comportement, en supposant que des conditions très froides ou très chaudes pouvaient éventuellement motiver une mise à l'eau. Enfin, toujours en envisageant la mise à l'eau, nous avons émis l'hypothèse que seules les femelles en bonne condition physique passeraient du temps en mer, car elles auraient des réserves d'énergie suffisantes pour compenser les pertes de chaleur induites par le contact avec l'eau froide.

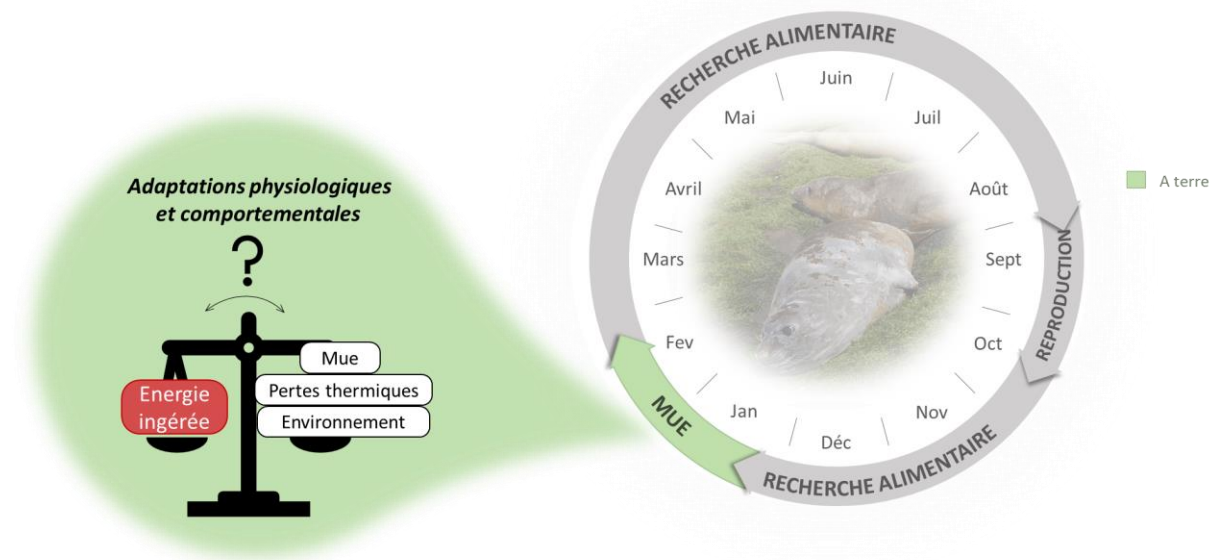


Figure 20 : balance énergétique au cours de la mue chez les éléphants de mer du sud

Illustration de la question soulevée dans le Chapitre 1.

Dans un second temps, considérant les contraintes supplémentaires auxquelles s'exposent les jeunes éléphants de mer du sud, dont la transition brutale entre milieu terrestre et marin, ce travail s'est intéressé au comportement en période de post-sevrage des juvéniles, et aux

stratégies mises en place face aux contraintes énergétiques et environnementales en lien avec leur immaturité (Chapitre 2, Figure 21). Si de précédentes études montrent une intensification de l'activité et des mises à l'eau à mesure que le post-sevrage avance, nous manquons d'informations précises sur l'effet de multiples facteurs comme la condition corporelle et les conditions météorologiques. Nous avons émis l'hypothèse que les juvéniles présenteraient des mises à l'eau d'autant plus fréquentes que leurs réserves corporelles au sevrage étaient faibles, dans l'optique d'accélérer l'entraînement avant le départ, voire peut-être de restaurer leur condition corporelle. Dans le cas d'un effet environnemental sur les mises à l'eau, nous avons supposé que des comportements différents pouvaient avoir lieu ; des mises à l'eau ponctuelles de rafraîchissement, peu actives, en réponse à un stress thermique, et des mises à l'eau plus longues et plus actives, d'entraînements, indépendantes des conditions météorologiques et en bordure de journée, comme décrit précédemment et en lien avec le futur comportement de chasse des adultes (Reiter et al. 1978 ; Arnbom et al. 1993 ; Falabella and Campagna 1999 ; Jørgensen et al. 2001 ; Piot et al. 2024).

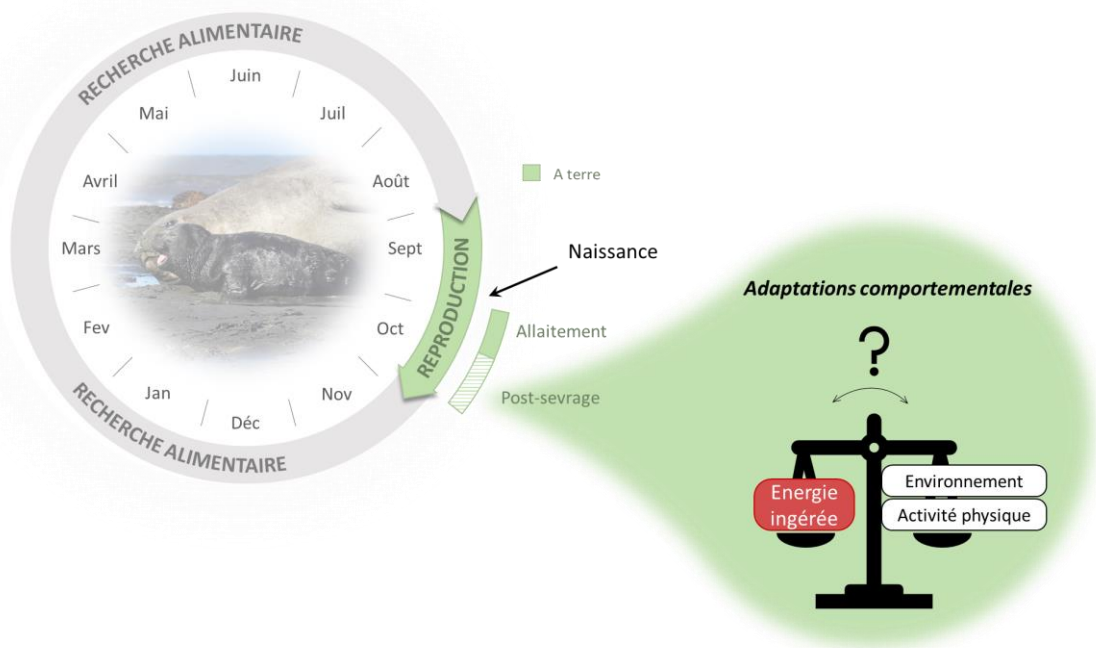


Figure 21 : balance énergétique au cours de la période de post-sevrage chez les jeunes éléphants de mer du sud

Illustration de la question soulevée dans le Chapitre 2.

Puisque cette période de post-sevrage est décrite comme critique concernant l'entraînement à la plongée et la maturation physiologique des juvéniles, dans un troisième temps, ce travail s'est concentré sur les adaptations physiologiques aux plongées extrêmes, et au conditionnement physiologique ayant lieu pendant cette période (Chapitre 3, Figure 22). Les animaux maintenant une activité physique élevée pendant les plongées, comprendre l'ontogenèse des adaptations métaboliques musculaires à l'hypoxie et au stress oxydant était primordial. Nous avons émis l'hypothèse que les adultes montreraient une plus grande efficacité mitochondriale, et des dommages oxydatifs plus élevés que les juvéniles, qui n'ont pas encore été régulièrement exposés à la restriction en oxygène et au stress oxydatif. Nous avons également supposé que les réponses adaptatives à l'hypoxie et au stress oxydatif seraient plus élevées chez les adultes. Comme les juvéniles restent très actifs pendant le jeûne, nous avons prédit qu'ils montreraient une biogenèse mitochondriale augmentée, et des voies métaboliques plus stimulées, ce qui permettrait de faire face à cet intense déséquilibre énergétique avant leur premier voyage. L'activation de ces voies et de la biogenèse mitochondriale pourrait alors contribuer à stimuler leur réponse adaptative aux stress physiologiques auxquels ils seront confrontés plus tard dans la vie, et, en cela, constituer une période de conditionnement indispensable à leur survie.

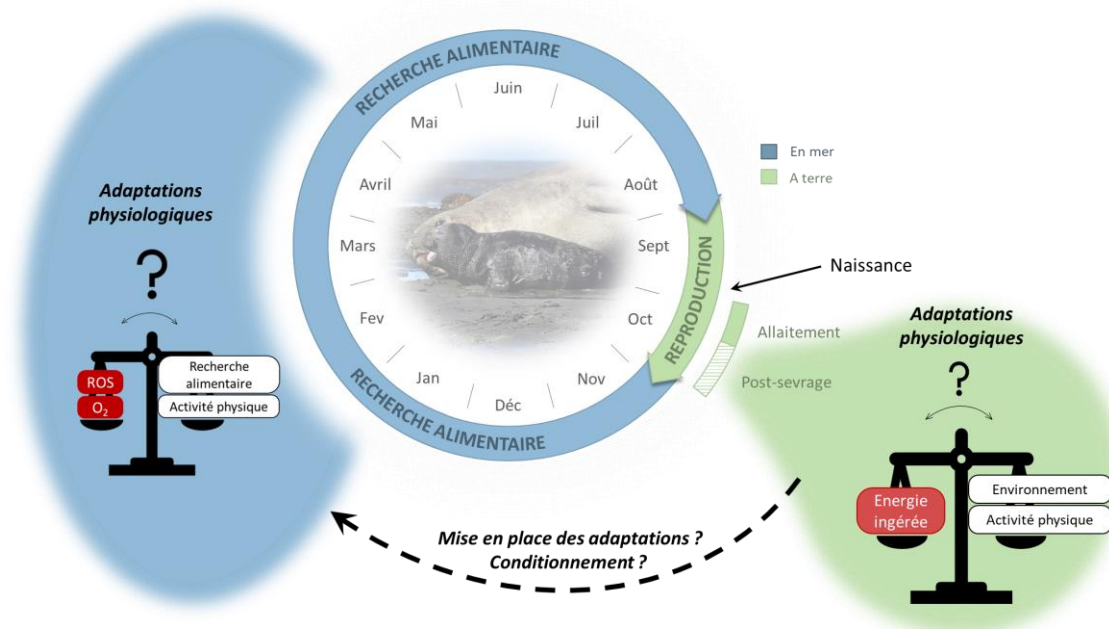


Figure 22 : balance énergétique au cours de la période de post-sevrage chez les jeunes éléphants de mer du sud et implications dans l'ontogenèse des adaptations aux stress physiologiques associés aux hypoxie répétées

Illustration de la question soulevée dans le Chapitre 3.

Essentiel 5 : introduction générale et lien avec les objectifs généraux de thèse

- Vivre dans un environnement extrême (ou en alternance entre plusieurs environnements extrême) représente des contraintes et un stress physiologique, surtout lorsque ces contraintes sont cumulées avec des événements physiologiquement coûteux. Les éléphants de mer du sud alternant régulièrement entre milieu marin et terrestre, ils sont un modèle pertinent pour l'étude des adaptations physiologiques et comportementales contribuant à rééquilibrer leur balance énergétique et faire face aux défis récurrents de leur cycle **(Chapitres 1, 2 et 3)**
- L'environnement fluctue, cela d'autant plus en milieu polaire avec le changement climatique. Ces paramètres contraignants (température, vent, ensoleillement) rajoutent une contrainte lors des phases d'émersion, questionnant l'impact des conditions météorologiques sur les adaptations comportementales de ces animaux à terre, et des conséquences sur leur condition et survie à plus long terme **(Chapitres 1 et 2)**
- Le stade juvénile est critique en raison du déséquilibre entre d'un côté son importance dans la dynamique des populations et l'acquisition des adaptations / d'une plasticité de réponse face aux contraintes, et de l'autre côté, sa vulnérabilité, son immaturité physiologique, et l'occurrence précoce d'événements extrêmes après la naissance. Les jeunes éléphants de mer du sud passant brutalement du milieu terrestre au milieu aquatique, le post-sevrage est une période de choix pour étudier l'ontogenèse des adaptations physiologiques aux plongées, et les adaptations comportementales pouvant aider à équilibrer la forte demande énergétique de l'entraînement, la maturation, la croissance, avec la quantité limitée des d'énergie disponible, leurs réserves de graisse **(Chapitres 2 et 3)**

Encadré 6 : résumé des chapitres et hypothèses de la thèse

- **Chapitre 1 : étudier les adaptations comportementales de femelles éléphants de mer du sud pendant la mue, période où la balance énergétique est particulièrement déséquilibrée**
 - Quantifier les déplacements à terre et en mer des femelles et voir si cela appuie l'hypothèse d'économie d'énergie (peu de déplacements pendant la mue, pas de contact avec l'eau froide)
 - Regarder si les déplacements sont influencés par les conditions environnementales et si les animaux sont en stress thermique avec l'hypothèse que les femelles pourraient aller en mer, milieu plus tamponné, en cas de mauvaises conditions météorologiques
 - Regarder si l'intensité et le type de déplacement sont influencés par des facteurs physiologiques tels que la condition corporelle, le stade de mue, avec l'hypothèse que des femelles avec plus de réserves et en fin de mue, donc moins sujettes aux pertes énergétiques, pourraient présenter plus de déplacement, voire des mises à l'eau
 - Rechercher les conséquences physiologiques si observation de variabilité dans les comportements à terre, avec l'hypothèse que des femelles s'économisant moins termineraient la mue en moins bon état corporel que les autres
- **Chapitre 2 : étudier les adaptations comportementales de jeunes éléphants de mer du sud pendant la phase de post-sevrage, l'entraînement et l'exposition aux premières plongées**
 - Distinguer si les animaux vont en mer nager activement (entraînement) ou si on observe des mises à l'eau plus calmes, non associées à un potentiel entraînement
 - Regarder l'allocation d'énergie allouée à l'entraînement selon la condition corporelle au sevrage, cette condition étant extrêmement variable selon les individus, avec l'hypothèse que des individus en mauvaise condition passeraient plus de temps à nager activement pour compenser une durée de post-sevrage réduite
 - Regarder si les variations environnementales sont un déterminant dans le type de comportement en mer (entraînement, mise à l'eau calme) avec pour hypothèse que les mises à l'eau calmes pourraient être une réponse au stress thermique, alors que l'entraînement serait indépendant de la météorologie, mais très corrélé à l'âge et à la condition corporelle
- **Chapitre 3 : étudier la mise en place des adaptations physiologiques aux contraintes des plongées en apnée chez les juvéniles, au cours de la période de post-sevrage**

Comparer les adaptations à l'hypoxie entre juvéniles et d'adultes, différents par l'exposition régulière ou non aux apnées prolongée, avec pour hypothèses que :

 - la plongée aurait stimulé ces réponses chez les adultes contrairement aux juvéniles, qu'elles soient systémiques (voie de réponse à l'hypoxie et au stress oxydant) ou locales (efficacité mitochondriale)
 - qu'un début de stimulation par la combinaison de stress physiologiques en début de vie pourrait agir comme un pré-conditionnement pour les juvéniles

MÉTHODOLOGIE



L'objectif de cette partie est de balayer les différentes méthodes d'analyse et suivis réalisés tout au long de ce travail. Pour les protocoles détaillés, se référer aux parties « Methods » des Chapitres correspondants. Un tableau récapitulatif en fin de section associe chaque méthode et effectif concerné à l'étude correspondante.

I. Collecte des données

L'ensemble des données de cette étude ont été collectées au cours des campagnes de terrain entre 2014 et 2022, sur trois colonies d'éléphants de mer du Sud dans l'archipel des îles Kerguelen : Pointe Suzanne (49°26'S, 70°26'E) entre 2014 et 2019, Estacade (49°16'S, 70°32'E) en 2020 et 2022, puis Port-Aux-Français (49°34'S, 70°21'E) en 2021 et 2022. Les animaux ont été suivis pendant la mue ou la reproduction, avec l'étude du post-sevrage et de la lactation. Les sites d'études sont reportés sur la Figure 23 (années et sites d'études sont détaillés en Table 3).

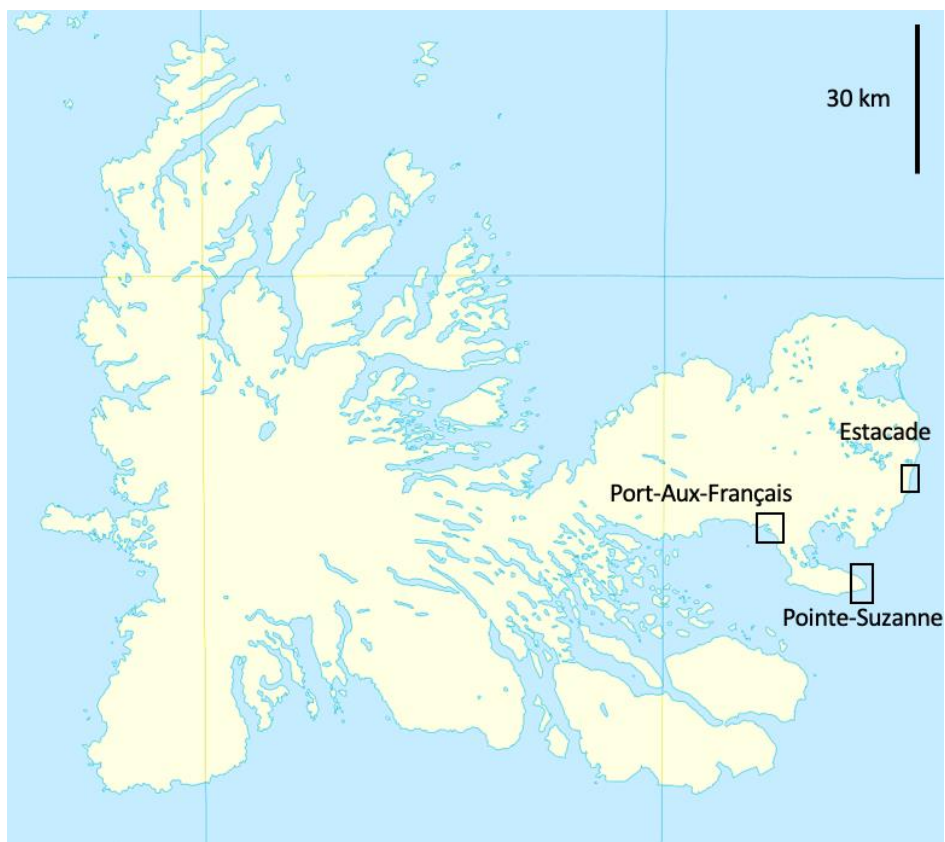


Figure 23 : Carte de Kerguelen situant Port-Aux-Français (49°34'S, 70°21'E), Pointe Suzanne (49°26'S, 70°26'E) et Estacade (49°16'S, 70°32'E).

Année	Site	Stade physiologique	Étude concernée	Effectif
2014	Pointe Suzanne (49°26'S, 70°26'E)	Mue	Chapitre 1	4
2015				5
2016				6
2017				8
2018				6
2019				7
2020	Estacade (49°16'S, 70°32'E)	Mue	Chapitre 1	6
2021	Port-Aux-Français (49°34'S,70°21'E)	Mue	Chapitre 1	7
2022	Estacade (49°16'S, 70°32'E)	Post-sevrage	Chapitre 2	6
			Annexe 1	11
	Port-Aux-Français	Lactation	Chapitre 3	6
			Post-sevrage	Chapitre 3

Table 3 : résumé des années et sites de collecte de données pour chaque étude.

N = 55 pour le Chapitre 1, N = 6 pour le Chapitre 2, et N = 5 juvéniles et 6 adultes pour le Chapitre 3.

II. Suivi comportemental des animaux

A. Sédation et équipement

Dans les différentes études, un total de 66 femelles a été suivi, dont 55 adultes et 11 juvéniles. Les animaux ont été capturés en début de mue ou pendant la période de post-sevrage, ont été marqués, pesés au kg près et mesurés au cm près. Les femelles capturées ont été tranquilisées par une injection intraveineuse (IV ; veine extradurale intervertébrale) ou intramusculaire (IM ; lombaires) de Tilétamine et Zolazepam (Zoletil®100 ; McMahon et al.

2000 ; Chaise et al. 2017-2018). Les individus ont reçu en moyenne 2 mL (0,65 mg.kg⁻¹) ou 3 mL (0,97 mg.kg⁻¹) pour une première injection respectivement en IV ou IM et étaient repoussés de 0,5 mL (0,16 mg.kg⁻¹) en IV au besoin, pour un total moyen de 4,5 mL reçu (1,46 mg.kg⁻¹) sur une capture d'une heure (calculs effectués à partir des données de 2016) (McMahon et al. 2000). Aucun accident d'anesthésie n'a eu lieu lors du déploiement des balises. Les différentes balises (pour plus de détails, voir les sections B-2, 3 et 4) ont été collées sur le dos et/ou la tête de l'animal. Les balises ont été retirées à la recapture ou perdues en mer (rejet naturel des enregistreurs de température stomacale par exemple, voir B-4).

B. Suivi des mouvements des animaux

Dans les différentes études, les déplacements des animaux ont été enregistrés à l'aide de différents enregistreurs de données appelés loggers (Wildlife Computers, USA) : les femelles en mue (Chapitre 1) ont été équipées avec des transmetteurs Argos (SPLASH10-L-309D, 76 x 55 x 32 mm, 125 g dans l'air). Les localisations Argos ont été récupérées à chaque transmission par satellite. Les localisations ont été classées 3, 2, 1, ou 0 selon la qualité de l'émission et l'erreur de localisation (<250 m, 250-500 m, 500-1500 m, >1500 m, respectivement). Elles ont été associées à des TDRs (TDR10-LX-340, 57 x 38 x 30 mm, 75 g dans l'air) permettant d'enregistrer la température de l'eau, la pression hydrostatique, et l'intensité lumineuse. Ces données ont permis de tracer les profils de plongée des animaux lors de leurs trajets en mer.

Dans le Chapitre 2, les juvéniles (N = 6) suivis en post-sevrage ont été équipés d'accéléromètres (B-4), permettant également la collecte de données GPS. Cependant, la mauvaise qualité des localisations récupérées a contraint l'étude à se focaliser uniquement sur les données d'accélérométrie.

C. Analyse du comportement d'ingestion

a. Déploiement des enregistreurs

Dans le Chapitre 1, 55 individus ont été équipés de capteurs de température stomacale (TDR-STP-207D, 63 × 21 mm, 31 g dans l'air) avalés sous sédation et associés à un SPLASH10-309 (76 x 56 x 32 mm, 125 g dans l'air, Wildlife Computers, USA) fixé sur la peau (Sauvé et al. 2014) collectant les données. Le monitoring de la température stomacale a duré de deux à dix jours avec un enregistrement toutes les 10 s. Les capteurs ont été ensuite naturellement rejetés en mer, et les enregistreurs récupérés à l'issue du monitoring.

b. Analyse des données de température

L'analyse de la température stomacale et des événements d'ingestion, ainsi que leur couplage aux déplacements des femelles, a été réalisée par un algorithme conçu pour l'étude (HexData). Le détail du fonctionnement de l'algorithme ainsi que les caractérisations des événements d'ingestion sont indiqués dans la partie « Methods » du Chapitre 1.

D. Estimation de l'activité des animaux

a. Déploiement des accéléromètres

En 2022, six femelles juvéniles en début de post-sevrage (entre 19 et 24 jours) ont été équipées avec des accéléromètres (Axytrek® Marine, TechnoSmArt, Italie), après sédation comme décrit en B-1. Les balises ont été collées sur le dos ou la tête de l'animal avec un composé époxy glue (Araldite® AW 2101, Ciba) et récupérées au bout de 7 à 15 jours. La fréquence d'enregistrement a été réglée sur 25 Hz.

b. Détermination du budget d'activité

Pour déterminer le budget d'activité des juvéniles pendant la durée totale du suivi, l'enregistrement de l'accélérométrie des juvéniles a été associé avec des observations

comportementales, par sessions de 60 minutes avec relevé de l'activité toutes les 30 secondes. Quatre comportements ont été rapportés : nage (repérage par un coup de nageoire, déplacement à terre, mouvements réduits (grattage, vocalise, sans déplacement), et repos. Une première session de 90 minutes a été réalisée juste après l'équipement. Les périodes d'enregistrement de 30 secondes cumulant plusieurs activités ont été retirées. L'utilisation d'un algorithme conçu pour l'étude a permis ensuite de classifier les données des accéléromètres sur toute la période de suivi à un des comportements décrits plus haut, et repérer l'expression des différents comportements tout au long du suivi.

c. Déduction des mises à l'eau et du comportement de nage

Les mauvaises qualités des positions Argos récupérées ne permettant pas de connaître la localisation (à terre ou en mer) des animaux, nous avons utilisé les données de l'accélérométrie et le comportement déduit des animaux après analyse par l'algorithme. Les périodes classées comme « nage », déduites à partir des coups de nageoires, ont été filtrées et conservées. Ensuite, la distinction entre « nage active » et des « mises à l'eau calmes » a été réalisée en appliquant un filtre sur la durée des événements et la fréquence de coups de nageoire par événement. Pour plus de détails, se référer à la partie « Methods » du Chapitre 2.

III. Suivi physiologique des animaux

A. Mesure de l'état corporel

a. Pesée et mesures des individus

Sous sédation, la longueur totale de l'animal a été mesurée au cm près avec un mètre ruban, ainsi que différentes circonférences dans le cas des adultes (Figure 24). Les femelles ont également été pesées à l'aide d'un filet relié à un trépied par un palan et un peson (HST Mini-Weigher, ± 1 kg, HST Scales UK Ltd, Figure 25).

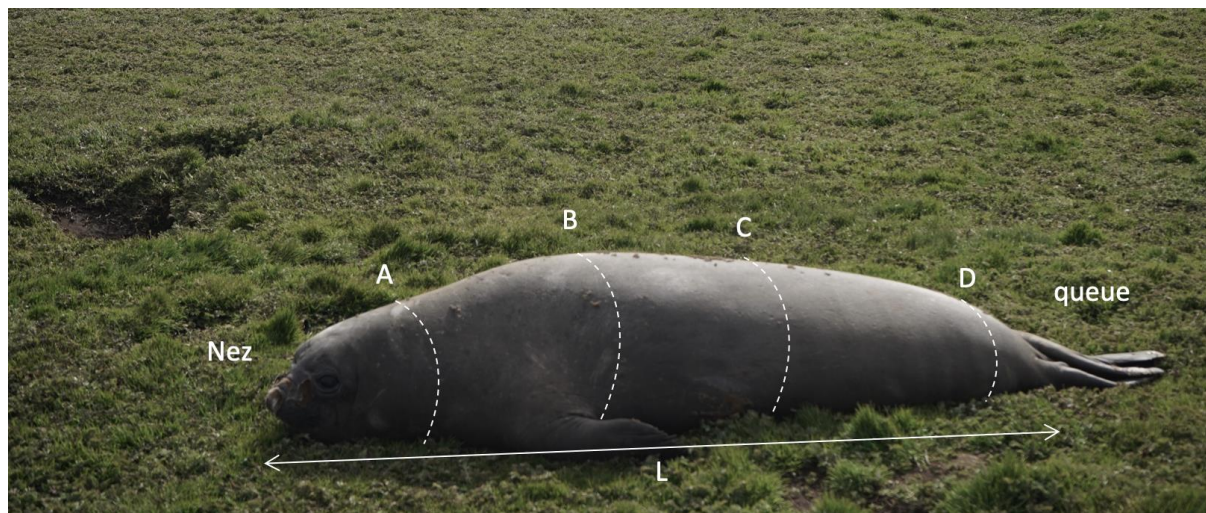


Figure 24 : mesure des circonférences sur un éléphant de mer du sud

Points de repères placés pour la mesure des circonférences. A : en arrière du cou. B : en regard de l'aisselle. C : milieu du dos. D : en avant de la pointe des hanches.

L correspond à la longueur entre le nez et la queue, mesurée deux fois.



Figure 25 : pesée d'un éléphant de mer du sud à l'anse de l'échouage, site de Port-aux-Français

Crédit photo : Arthur Bernard

b. Méthode de la dilution isotopique

Pour mesurer la condition corporelle des animaux, nous avons utilisé la méthode de dilution isotopique avec de l'eau deutérée (D_2O). Cette méthode permet d'estimer la teneur en eau totale du corps (TTE pour « Teneur Totale en Eau ») et la composition corporelle (Speakman 1998).

Le protocole est détaillé en Figure 26. Une première prise de sang est réalisée pour déterminer l'enrichissement basal en deutérium de l'animal. Immédiatement après cette prise de sang, une dose connue de deutérium (99,80%, testé microbiologiquement, Eurisotop, Saint-Aubin, France) est injectée en intraveineux (dans cette étude, $5,67 \pm 1,12$ g ou $0,058 \pm 0,002$ g/kg). Une deuxième prise de sang est prise après équilibration de tout le deutérium dans les liquides corporels (pouvant varier de 45 min à 5 h, selon la taille, la masse grasseuse, le métabolisme, et l'âge de l'individu). En mesurant la concentration en deutérium de la seconde prise de sang, tout en connaissant la dose injectée, et à partir d'équations précédemment établies et validées chez les phocidés (Reilly and Fedak 1990), il est possible de calculer l'eau corporelle totale, la masse grasse et la masse protéique, comme décrit ci-dessous :

- (1) Eau corporelle totale = $0,382 + 0,965 * (^2HHO \text{ space})$
- (2) %masse grasse = $105,1 - 1,47 * (\% \text{ Eau corporelle totale})$
- (3) %masse protéique = $0,42 * (\% \text{ Eau corporelle totale}) - 4.75$

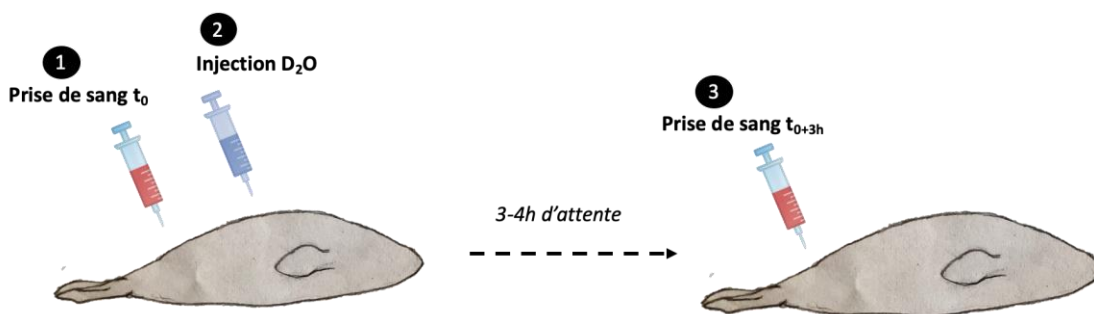


Figure 26 : protocole pour mesure de la composition corporelle à l'aide d'eau simplement marquée (D_2O).

Après pesée et mesure, une dose connue de D_2O est injectée par voie intraveineuse, puis une seconde prise de sang est prise après équilibration (3-4 h).

Dans cette étude, basée sur de précédentes publications, nous avons choisi un temps d'équilibration isotopique de 3-4 h, variant selon la facilité à retrouver l'animal. Toutefois, nous avons réalisé une cinétique sur 5h chez un individu afin de valider ce temps d'attente (Figure 27).

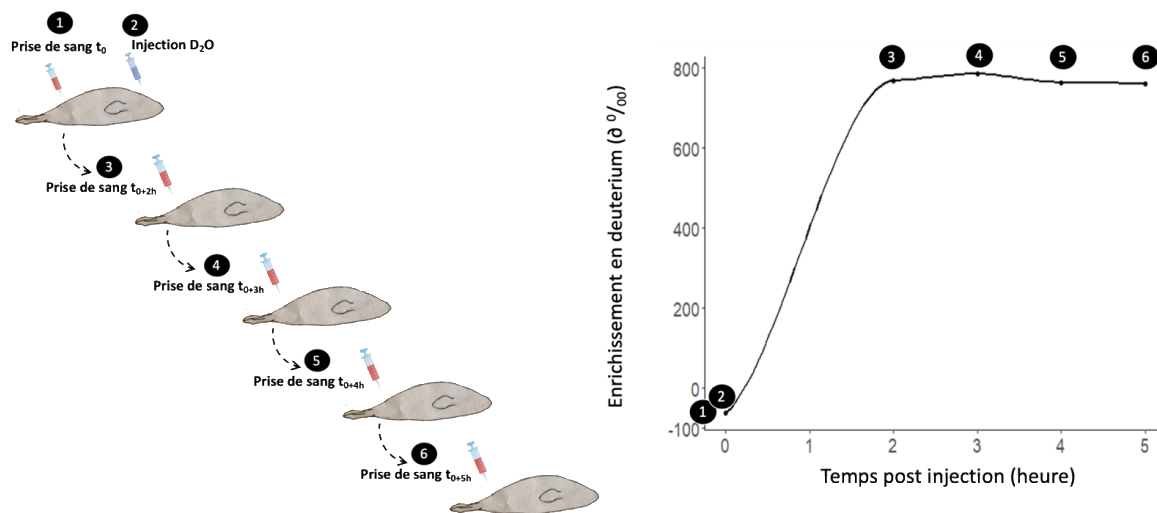


Figure 27 : protocole pour la cinétique d'équilibration du deutérium (D₂O).

Après l'injection de D₂O, des prises de sang régulières sont prises à 2, 3, 4 et 5 h post injection. L'équilibre est atteint lorsque la courbe atteint un plateau.

La méthode de référence consiste à conserver le sang dans des capillaires en verre scellés à la flamme juste après prélèvement (Arnould et al. 1996 ; Mata et al. 2006 ; Bennett et al. 2007 ; Lee et al. 2011). Cette méthode est fiable (Speakman 1998) mais n'est pas adaptée pour un terrain isolé et difficile d'accès (transport conséquent pour ramener les échantillons en métropole pour analyse). Les capillaires doivent être scellés le plus rapidement possible, ce qui n'est pas possible en plein vent, et risquent de se briser pendant le transport. Une alternative est de conserver uniquement le sérum après centrifugation rapide stockage dans un tube Eppendorf congelé. Nous présentons en Annexe 2 une étude comparative du stockage des échantillons sous ces deux formes : sang total sur capillaires et sérum dans des tubes congelés et scellés avec du parafilm après centrifugation.

L'analyse de la teneur en D₂O dans la prise de sang a été réalisée en laboratoire, en métropole au DEPE IPHC UMR 7178 à Strasbourg.

B. Détermination du stade de mue

Dans le Chapitre 1, l'avancement dans le processus de mue des individus a été estimé visuellement à l'équipement, chaque jour du suivi si possible, et à la recapture. Le stade de mue a été classé comme initial (0 à 40% du pelage renouvelé), moyen (50 à 80%), final (plus de 90%), comme décrit dans d'autres études (Chaise et al. 2018).



Figure 28 : détermination du stade de mue avec un exemple de femelles en début (A), milieu (B) et fin (C) de mue.

Crédits photos : Laura Charlanne (A, B) et Laureline Chaise (C)

C. Étude fonctionnelle d'un muscle de nage

a. Principe de la respirométrie haute résolution sur fibres musculaires

Dans le Chapitre 3, nous nous sommes appuyés sur la respirométrie haute résolution, technique qui permet l'étude fonctionnelle des mitochondries présentes dans les fibres musculaires. Les fibres sont placées dans les chambres étanches d'un oroboros (Oroboros

Instruments, Innsbruck, Autriche), après perméabilisation (pour plus de détail, voir 3-B). Dans les chambres fermées, des électrodes vont mesurer le flux d'oxygène (en pmol O₂/s.mg), et comment ce flux varie en réponse à l'ajout successifs de différents substrats (sucres, graisses, ADP) et inhibiteurs des différents complexes de la chaîne respiratoire. Cette technique permet une compréhension fine de la régulation et de la capacité oxydative de la chaîne respiratoire (détail des protocoles en 3-C).

b. Prélèvement et préparation des fibres musculaires

Nous avons choisi de prélever quelques mg d'un muscle de nage au niveau du dos (*longissimus dorsi*). L'induction de l'anesthésie a été réalisée comme décrit en B-1. Pendant la procédure chirurgicale, la sédation a été maintenue par injections régulières de Tilétamine et Zolazépam (Zoletil® 100) dans la veine extradurale toutes les 5 à 10 minutes, sur contrôle des réflexes de l'animal. L'analgésie locale a été réalisée avec de la Lurocaïne® 1% (1 à 3 mL en sous-cutané, en regard de la zone d'incision). Après dilacération du tissu adipeux jusqu'au plan musculaire, le prélèvement a été réalisé par biopsie-punch (8 mm). Deux prélèvements de 10 à 20 mg chacun. Le premier a été stocké dans du BIOPS (pH 7,1, 10 mM Ca²⁺-EGTA, 0,1 µM free calcium, 20 mM taurine, 50 mM K-MES, 0,5 mM DTT, 6,56 mM MgCl₂, 5,77 mM ATP, et 15 mM phosphocreatine) en attendant de procéder à l'analyse de la respiration mitochondriale dans l'heure suivante; l'autre a été placé dans du RNAlater® puis rapidement congelé à -20°C pour les analyses moléculaires (B-4). Une suture cutanée en X a été réalisée avec du PDS® II D3T monofilament absorbable (2-0, 3/8, 24 mm ; Ethicon) puis nettoyée avec de la povidone 10% solution (Vétédine®) avant protection avec un aluspray (Alumisol®). Une injection intramusculaire d'antibiotique (Pénicilline, Streptomycine, Shotapen®, 13 mg/kg, et 16 mg/kg, respectivement pour les juvéniles et adultes, 12 mL maximum par point d'injection) et d'un anti-inflammatoire non stéroïdien (Meloxicam, Metacam®, 0,5 mg/kg) a été réalisée juste après suture. Après l'intervention, l'animal a été suivi jusqu'au réveil complet et au retour d'une locomotion volontaire. La plaie a été vérifiée visuellement à distance tous les jours jusqu'au départ de l'animal (2 à 7 jours).

Le prélèvement conservé dans du BIOPS a été placé sur glace dans une boîte de pétri pour perméabilisation mécanique par dilacération avant perméabilisation chimique dans un bain

de solution BIOPS + 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de saponine (30 min), avant d'être séché sur papier absorbant (Wattman), les fibres séparées en deux morceaux, pesées, et placées dans les chambres A et B de l'oroboros contenant du MiR05 à 37°C avant application des protocoles suivants (Gnaiger et al. 2019). Le processus est décrit en Figure 29.

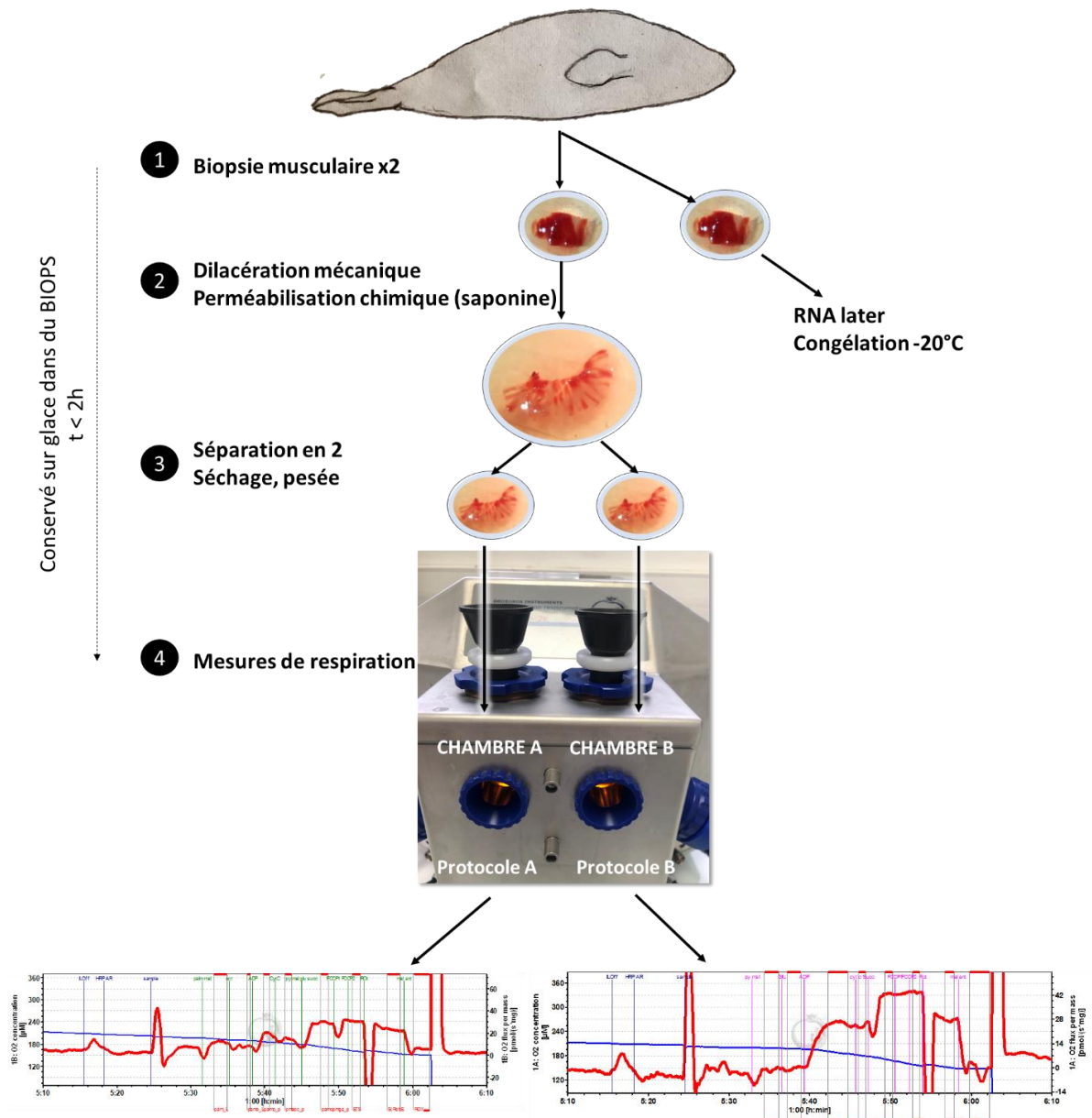


Figure 29 : design expérimental de l'étude fonctionnelle par respirométrie haute résolution, de la biopsie musculaire jusqu'au dépôt dans les chambres de l'Oroboros.

c. Protocoles mis en place et indicateurs calculés

Deux protocoles ont été appliqués pour l'étude respirométrique. Le protocole A (Table 4), avec ajout d'acides gras et de sucres, et le protocole B, avec ajout de sucres uniquement. Dans le protocole A, les mitochondries sont d'abord mises en présence d'acides gras à chaînes carbonées courtes et longues, sans ADP. Le flux de protons résultant est donc un flux passif, le LEAK (ou fuite), puisque qu'il n'y a pas de couplage avec la production d'ATP (pas de fonctionnement de l'ATP synthase). Ensuite, l'ajout d'ADP permet d'obtenir la valeur du flux issu du couplage avec la production d'ATP et en présence d'acides gras uniquement (OXPHOS FA). L'ajout du Cytochrome C permet de vérifier l'intégrité membranaire après perméabilisation. Puis, l'ajout de différents substrats (Malate + Pyruvate + Glutamate, Succinate) activent respectivement les complexes I et II, donnant la valeur de couplage OXPHOS CI + CII. Ensuite, l'ajout de carbonylcyanide p-trifluoromethoxy-phenylhydrazone (FCCP) découple la mitochondrie, qui tourne à sa capacité maximale (le flux n'est plus limité par l'ATP synthase), donnant le stade MAX CI + CII. Puis, l'ajout de roténone vient inhiber le complexe I, donnant le MAX CII. Enfin, le Malonate et l'Antimycine viennent inhiber la chaîne respiratoire dans son intégralité, donnant la respiration résiduelle.

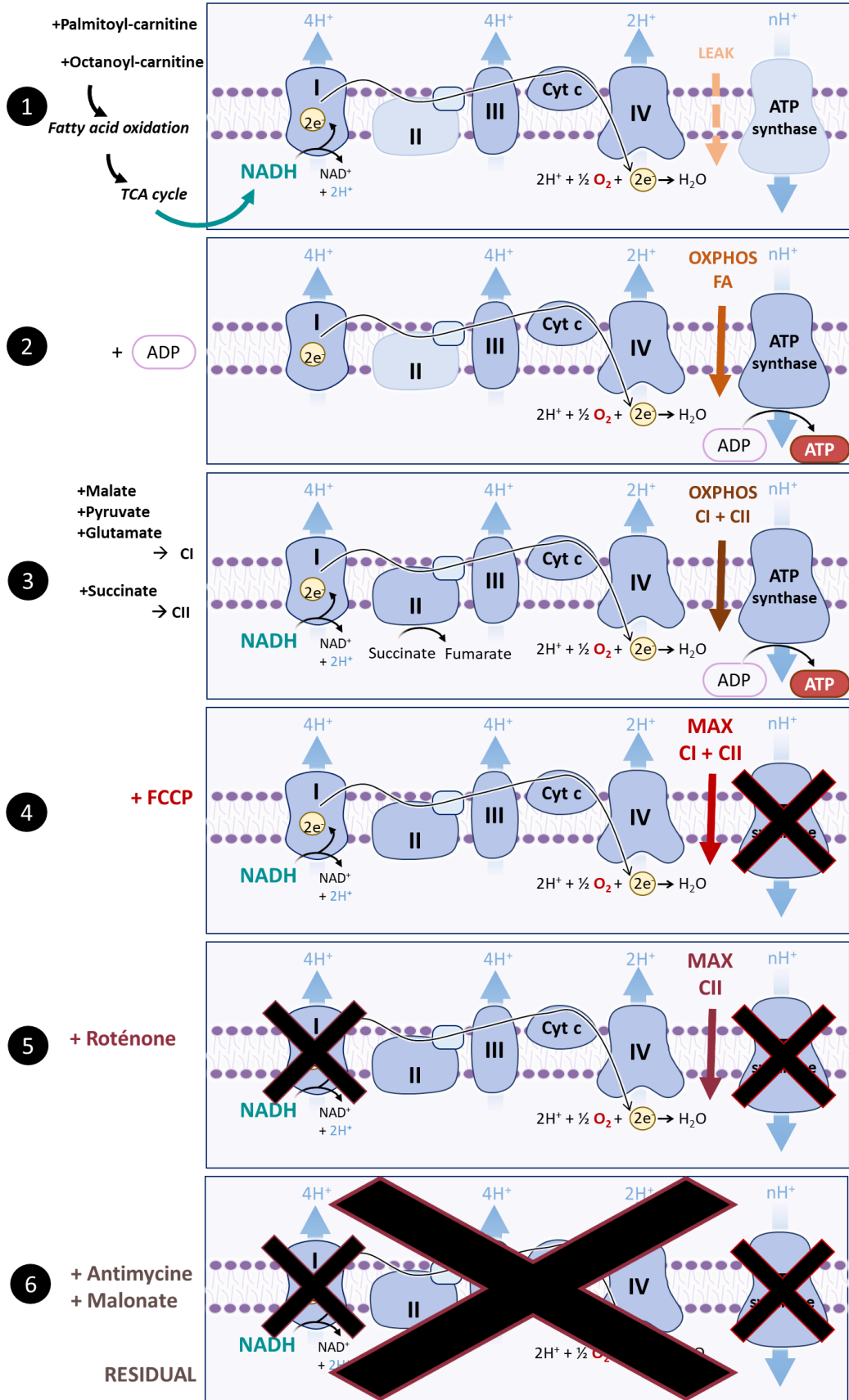
La même chose est réalisée dans le protocole B, mais avec des substrats glucidiques et l'activation du complexe I directement.

Le détail et concentrations des substrats et inhibiteurs est donné dans la Table 4, et le fonctionnement détaillé en Figure 30.

Protocoles (par ordre d'injection)	Stade de respiration
A Palmitoyl-carnitine (0,04 mM) + malate (0,1 M) Octanoyl-carnitine (0,2 mM)	LEAK ; Respiration non couplée en présence d'acides gras à chaîne courte et longue
ADP (5 mM)	OXPHOS FA ; Respiration couplée en présence d'acides gras
Cytochrome C (0,01 mM)	CytC ; test d'intégrité membranaire
Malate (5 mM) + Pyruvate (5 mM) + Glutamate (10 mM) + Succinate (10 mM)	OXPHOS CI+CII ; Respiration couplée avec contribution des complexes I et II
Carbonylcyanide <i>p</i> -trifluorométhoxy-phenylhydrazone (FCCP, 0,001 mM)	MAX CI+CII ; Respiration découplée (maximale) avec contribution des complexes I and II
Rotenone (0,005 mM)	MAX CII ; Respiration découplée (maximale) avec contribution du complexe II
Malonate (5 mM) + Antimycine (0,0025 mM)	RESIDUAL ; Respiration résiduelle
B Pyruvate (5 mM) + Malate (5 mM) Glutamate (10 mM)	LEAK ; Respiration non couplée
ADP (5 mM)	OXPHOS CI ; Respiration couplée avec contribution du complexe I
Cytochrome C(0,01 mM)	CytC ; test d'intégrité membranaire
Succinate (10 mM)	OXPHOS CI+CII ; Respiration couplée avec contribution des complexes I et II
Carbonylcyanide <i>p</i> -trifluorométhoxy-phenylhydrazone (FCCP, 0,001 mM)	MAX CI+CII ; Respiration découplée (maximale) avec contribution des complexes I and II
Rotenone (0,005 mM)	MAX CII ; Respiration découplée (maximale) avec contribution du complexe II
Malonate (5 mM) + Antimycine (0,0025 mM)	RESIDUAL ; Respiration résiduelle

Table 4 : Protocoles appliqués (A and B) et stade de respiration associés dans le cadre de l'étude fonctionnelle d'un muscle de nage chez l'éléphant de mer du sud.

A



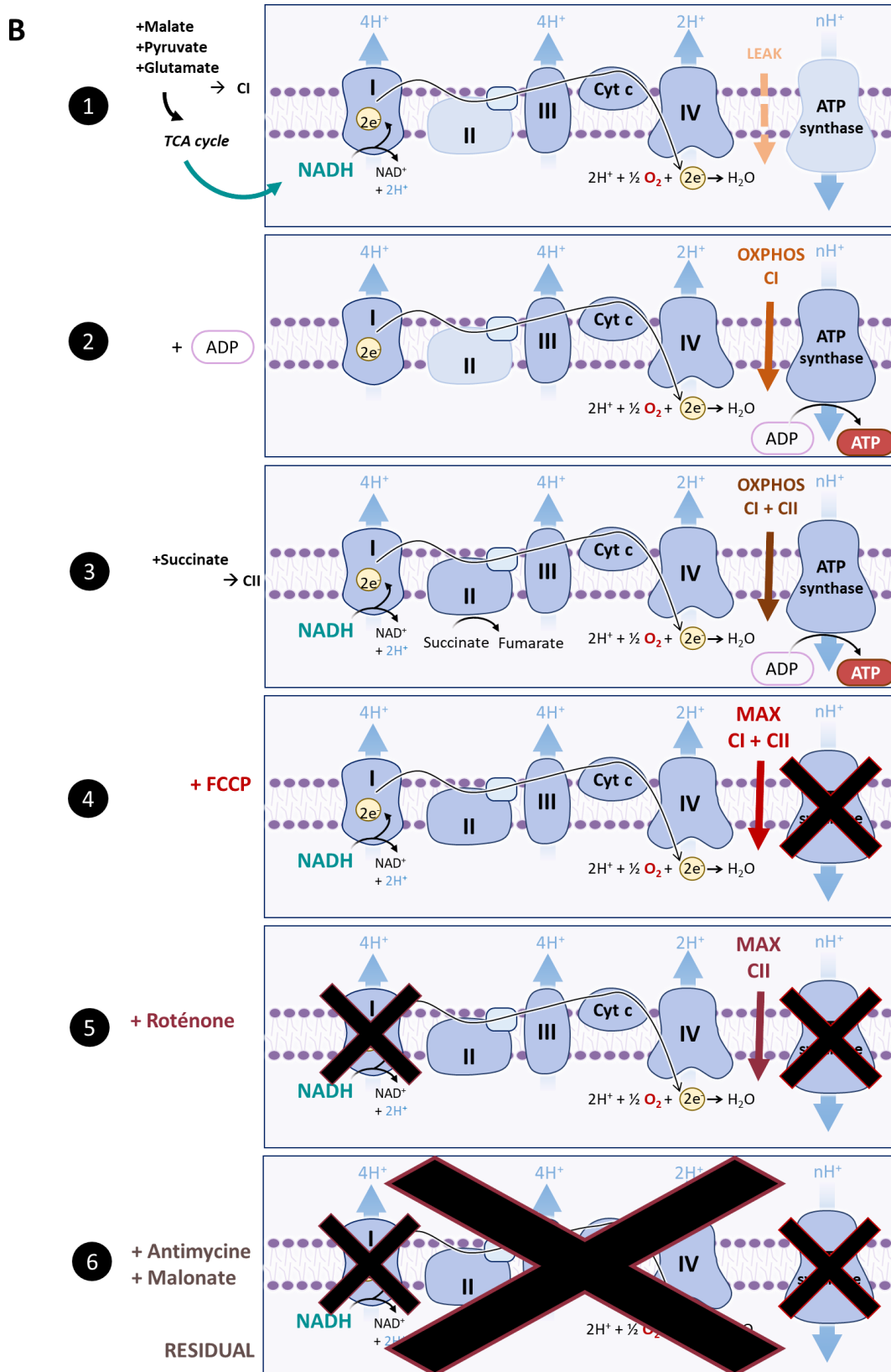


Figure 30 : schématisation fonctionnelle des protocoles A (A) et B (B) et des différentes valeurs mesurées

Les mesures de respirométrie ont été réalisées dans un milieu normoxique. Nous avons conscience qu'un milieu hyperoxique est conseillé pour les mesures sur fibres entières pour s'affranchir d'un effet de limitation de diffusion d'oxygène. Cependant en raison des contraintes de terrain, du faible effectif échantillonné et de la répétabilité des mesures, nous n'avons pas été en capacité d'augmenter la quantité d'oxygène dans la cuve ni de réaliser un test de diffusion en amont des expériences. Par conséquent, nous sommes conscients que nos valeurs absolues de respiration peuvent être diminuées par cet effet de diffusion. Cependant, l'objectif étant de comparer les juvéniles et les adultes, et les prélèvements et préparations des fibres ayant été réalisées de la même façon, par la même personne, sur un volume similaire, nous envisageons que cet effet soit réduit et similaire entre nos différents individus. Cependant, nous trouverions intéressant de comparer avec des futures expériences en conditions hyperoxiques pour conclure de manière certaine.

D. Étude moléculaire d'un muscle de nage

Les analyses moléculaires ont eu lieu au DEPE et au DSA, IPHC UMR 7178 à Strasbourg.

a. Extraction d'ARN et de protéines

Dans le Chapitre 3, nous avons extrait simultanément l'ARN et les protéines des tissus musculaires de 5 juvéniles et 6 adultes femelles éléphant de mer du sud prélevés comme décrit précédemment. Un fragment d'environ 30 mg a été broyé en présence de Trizol, puis les protéines et l'ARN ont été séparés en phases distinctes à l'aide de chloroforme (Khudyakov et al. 2022). L'ARN a ensuite été purifié en utilisant un kit RNeasy Mini Kit (Qiagen®, Hilden, Allemagne). Les protéines et ARNs obtenus ont été utilisés dans les analyses décrites en 4-B et 4-C.

b. Étude protéomique par spectrométrie de masse

L'analyse par spectrométrie de masse (LC-MS/MS) est une analyse qualitative de l'ensemble des protéines présentes dans la fraction extraite ci-dessus (spectromètre de masse TimsTOF Pro 2, Bruker Daltonics, Bremen, Allemagne). Les protéines sont lysées, et les

séquences d'acides aminés analysées, permettant l'identification des sous-unités à partir d'une base de données protéomiques connue (dans notre cas, une base de données dérivée de la dernière annotation du génome de *Mirounga leonina* (TaxID 9715) dans Refseq (Refseq Assembly accession GCF_011800145.1 ; Assembly Name KU_Mleo_1.0). Ensuite, l'annotation fonctionnelle des protéines retrouvées est réalisée par comparaison avec leurs homologues humains. Ainsi, des clusters fonctionnels peuvent être identifiés, ainsi que leur variation d'intensité selon le groupe (juvénile ou adulte) et par rapport à l'homme (FE, Fold Enrichment). Seules les protéines avec un FE de plus de 1,5 et une p-value de Benjamini < 0,05 ont été considérées dans l'analyse.

c. Expression de gènes par RT-PCR

Les ARN extraits ont été rétro transcrits à l'aide d'un kit TACARA® (BioEurope SAS, Saint-Germain-en-Laye, France). Nous avons ensuite comparé l'expression de gènes cibles du métabolisme protéique, lipidique, facteurs de transcription des voies de l'hypoxie et de réponse au stress oxydant, entre 5 juvéniles et 6 adultes. Les gènes ont été choisis en fonction des résultats de l'étude protéomique précédente. Nous avons cherché à valider certains résultats clef et à compléter l'analyse par de l'expression génique de protéines indétectables dans l'analyse protéomique. Nous avons réalisé plusieurs amplifications en temps réel, et testé trois gènes contrôles différents. Après sélection par le logiciel GeNorm, nous avons gardé l'association des deux gènes Actine/Succinate déshydrogénase (M = 0,029). Nous avons utilisé la méthode de Pfaffl pour comparer les juvéniles et les adultes.

E. Quantification des dommages oxydatifs

Les dommages oxydatifs sont la résultante du stress oxydant sur les structures cellulaires telles que les lipides, les protéines, ou encore l'ADN. Ainsi, la quantification du stress oxydant est un proxy mixte du stress oxydant produit sous forme d'espèces réactives de l'oxygène, et des défenses antioxydantes qui neutralisent ce stress oxydant. Dans cette étude, nous avons quantifié les dommages oxydatifs systémiques dans le plasma d'éléphants de mer du sud par l'oxydation des lipides (mesure des 8-isoprostanes, ou 8-isoPGF2 α) et des protéines (mesure des protéines carbonylées). Les mesures des deux indicateurs ont été réalisées par kit ELISA

(Cell BioLabs, San Diego, CA, USA) n°STA-337 (CV intra = 5,1 %) et STA-310 (CV intra = 6,9%) respectivement pour les isoprostanes et les protéines carbonylées, (Vazquez-Medina et al. 2010). Le contenu protéique total plasmatique a été mesuré en utilisant un kit BCA Protein Assay (ThermoFischer Scientific, Rockford, USA).

IV. Données environnementales

Les données météorologiques locales ont été récupérées à partir de la station Météo-France de Port-Aux-Français, pendant la période de mue (janvier-février) pour les années 2014-2022 (Chapitre 1), et pendant le post-sevrage (octobre-novembre) pour 2022 (Chapitre 2). Ces données incluent la température ambiante (°C), l'humidité relative (%), la durée d'ensoleillement (min), et la vitesse du vent (minimale, maximale, moyenne, en m/s). Les données ont été moyennées par jour.

V. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec R studio (version 4.1.2). Pour le détail des analyses par étude, se référer aux sections « Methods » de chaque chapitre.

VI. Récapitulatif des méthodes utilisées par étude

Méthode	Matériel	Chapitre concerné et effectifs
Suivi de la mobilité et du mouvement (déplacement et paramètres de plongée)	SPLASH10-L-309D TDR10-LX-340	Chapitre 1, N = 55
Repérage des animaux	Antennes VHF	Chapitre 2, N = 6
Mesure de l'accélération et détermination du budget d'activité	Accéléromètres Axytrek® Marine	Chapitre 2, N = 6
Mesure de la température stomacale et analyse des courbes d'ingestion	TDR-STP-207D SPLASH10-L-309D Algorithme HexData	Chapitre 1, N = 55
Pesée et mesure	Trépied, palan, peson	Chapitre 1, N = 55 Chapitre 2, N = 6 Chapitre 3, N = 11 (5 juvéniles, 6 adultes)
Estimation du stade de mue	Estimation visuelle, par stade	Chapitre 1, N = 55
Mesure de la composition corporelle	Dilution isotopique	Chapitre 2, N = 6 juvéniles Annexe 1, N = 11 juvéniles
Étude fonctionnelle du muscle de nage	Biopsie musculaire, respirométrie	Chapitre 3, N = 11 (5 juvéniles, 6 adultes)
Étude moléculaire d'un muscle de nage	LC MS/MS, expression de gènes, dommages oxydatifs	Chapitre 3, N = 11 (5 juvéniles, 6 adultes)
Données météorologiques	Station Météo-France de Port-Aux-Français	Chapitre 1, N = 55 Chapitre 2, N = 6

CHAPITRE 1 :
ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES ET
COMPORTEMENTALES DES ADULTES ÉLÉPHANTS DE
MER DU SUD FACE AUX CONTRAINTES ÉNERGETIQUES
ET ENVIRONNEMENTALES PENDANT UN ÉVÉNEMENT
COÛTEUX, LA MUE



I. Introduction

La gestion de la balance énergétique pendant un événement physiologiquement coûteux sans apport calorique implique des adaptations permettant de limiter les pertes énergétiques. Dans ce contexte, les variations environnementales peuvent rajouter des contraintes supplémentaires et risquer de placer l'organisme dans un état de stress physiologique. Ce cumul de contraintes est retrouvé chez l'éléphant de mer du sud lors des phases d'émersion, le milieu terrestre étant moins tamponné que le milieu marin. Parmi les événements physiologiques réalisés à terre, la mue est l'un des plus coûteux, puisque les animaux perdent en moyenne 4,7 kg par jour, pendant 25 à 30 jours de mue (Boyd et al. 1993). Ainsi, se pose la question des adaptations physiologiques et comportementales chez ces animaux pendant la mue, qui permettraient de limiter les pertes énergétiques, en prenant en compte le coût de l'événement, mais aussi les contraintes météorologiques liées à l'émersion.

II. Résumé en français de l'Article 1

Les éléphants de mer du sud présentent une « mue catastrophique », un événement coûteux caractérisé par le renouvellement à la fois du pelage et de l'épiderme. Ce processus nécessite une vascularisation périphérique élevée et un séjour à terre d'un mois, exposant les animaux à des pertes de chaleur importantes. Considérant ces pertes énergétiques, et résidant en milieu polaire, il est admis que les éléphants de mer du sud évitent le contact avec l'eau froide et la recherche alimentaire pendant la mue, se reposant strictement sur leurs réserves, et limitant au maximum leurs déplacements à terre. Cependant, nous avons jusqu'à présent peu de données sur leurs activités.

Dans ce chapitre, nous avons étudié la capacité des individus à faire face aux contraintes énergétiques de la mue dans un environnement changeant. Pour cela, nous avons enregistré la température stomacale et les déplacements de femelles éléphants de mer en mue.

Nos résultats montrent que, sur 55 individus, 79% des femelles en mue sont allées en mer, et 61% ont ingéré de l'eau et / ou de la nourriture, et ce malgré le coût énergétique élevé de l'immersion dans l'eau froide pendant cette période. Ce comportement a été corrélé à des périodes chaudes et avec peu de vent, probablement en réponse à un stress thermique. Nous

avons également observé que les femelles qui ont réalisé des plongées et présenté plus d'événements d'ingestion ont perdu moins de masse corporelle.

Nous concluons que le paradigme du jeûne pendant la mue chez cette espèce, ainsi que les conséquences de ce comportement sur leur condition en fin de mue, devraient être reconsidérés, en particulier dans le contexte du changement climatique.

III. Article 1 : Breaking the fast: First report of dives and ingestion events in molting southern elephant seals

Laura Charlanne¹, Laureline Chaise², Damien Sornette², Erwan Piot^{3,4}, Dominic J. McCafferty⁵, André Ancel¹, Caroline Gilbert^{4,6}.

¹Université de Strasbourg, CNRS, IPHC UMR 7178, 67000 Strasbourg, France

²Hex-Data, 847 Route de Frans, 69400 Villefranche-sur-Saône, France (<https://hex-data.io>)

³CNRS UMR5536, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux, France

⁴UMR 7179, CNRS/MNHN, Laboratoire MECADEV, 1 avenue du petit château, 91400, Brunoy, France

⁵Scottish Centre for Ecology and the Natural Environment, School of Biodiversity, One Health and Veterinary Medicine, College of Medical Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, Glasgow, UK

⁶Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France

Article publié dans Communications Biology

7, 64 (2024). <https://doi.org/10.1038/s42003-023-05720-2>

A. Abstract

Southern elephant seals (SES) experience a 'catastrophic molt', a costly event characterized by the renewal of both hair and epidermis that requires high peripheral vascular circulation. Molting animals are therefore constrained by high metabolic heat loss and are thought to fast and remain on land.

To examine the ability of individuals to balance the energetic constraints of molting on land we investigate the stomach temperature and movement patterns of molting female SES.

We find that 79% of females swam and 61% ingested water or prey items, despite the cost of cold-water exposure while molting. This behavior was related to periods of warm and low wind conditions, and females that dived and ingested more often, lost less body mass.

We conclude that the paradigm of fasting during the molt in this species, and the fitness consequences of this behavior should be reconsidered, especially in the context of a changing climate.

B. Introduction

Molting is an important physiological event of partial or total renewal of integuments, which is influenced by season, growth, age, and environmental conditions (Schmidt-Nielsen 1972; Bourlière 1975). This process occurs in a large variety of species, including mammals (Ling 1970; Zimova et al. 2018; Beltran et al. 2018), birds (Kjellén 1994; Zimova et al. 2018), reptiles (Wheler 2007; Hellebuyck et al. 2012), fishes (Newton 2009) and arthropods (Ruppert et al. 2004). Molting is involved with a change in coat or plumage color, that may be related to reproductive success and camouflage in the environment (Zimova et al. 2018; Valdez and Benitez-Vieyra 2023), growth (Ruppert et al. 2004), thermoregulation (Maurel et al. 1986), and defense against parasites or pathogens (Hellebuyck et al. 2012), hence playing an important role in the fitness of an individual. However, molt is an energy demanding process (Zuberogoitia et al. 2018) requiring high peripheral vascular circulation to promote skin cell proliferation and tissue growth (Ashwell-Erickson et al. 1986), and a high metabolic rate to balance heat loss (Walcott et al. 2020; Thometz et al. 2023).

Most Antarctic and sub-Antarctic phocid seals undergo an annual molt (Beltran et al. 2018). While seals are well adapted for an aquatic life, they are obliged to come ashore (on land or ice floe) to molt (Le Boeuf et al. 1993; Kooyman et al. 2000). In phocids, regrowth of skin and fur requires a skin temperature above 17°C (Feltz and Fay 1966). Maintenance of this warm temperature in polar regions leads to elevated metabolic rate (Kuhn et al. 2009; Walcott et al. 2020; Thometz et al. 2023). To reduce energy expenditure during the molt, seals are insulated with thick subcutaneous blubber (Scholander et al. 1950; Worthy et al. 1992), regulate peripheral blood flow, and avoid even higher heat loss by hauling out to minimize time in cold water, where heat loss is 25 times faster than in air (Nadel 1984; Paterson et al. 2021). Even with these actions, molting metabolic rate is 2-3 higher than resting metabolic rate (Ashwell-Erickson et al. 1986; Paterson et al. 2021). The extent to which time in water, particularly during the molt, may affect thermoregulatory costs is poorly understood.

Southern elephant seals (SES) are one of only four species of phocids that undergo a 'catastrophic molt', during which they renew both their hair and cornified epidermis (Perrin et al. 2009; Parson 2013). Of the four species, they are the only one to undergo the molt in a polar environment (other species: northern elephant seal (NES), *Mirounga angustirostris* (Worthy et al. 1992), Hawaiian monk seal (*Monachus schauinslandi*) (Atkinson et al. 1994), and Mediterranean monk seal (*Monachus monachus*) (Badosa et al. 2006)). During this period, like other phocids, they lose a large proportion of their body mass (23% SES (Slip et al. 1992b), 25%, NES (Worthy et al. 1992), 17%, gray seals *Halichoerus grypus* (Beck et al. 2003)). This large change, combined with the increased peripheral circulation which would result in high heat loss in water, led to the conclusion that elephant seals fast and remain on land during the molt (Worthy et al. 1992; Boyd et al. 1993; Carlini et al. 1999; Liwanag et al. 2012). While ashore, they are exposed to a range of meteorological conditions. SES molt on subantarctic islands, they experience cold, wet, and windy conditions during the approximately one-month haulout (Testut et al. 2006). Environmental conditions strongly influence heat flux between an animal and the environment. SES minimize heat loss through social thermoregulation in large aggregations and through choice of different beach habitats such as grass or mud pools (Chaise et al. 2018, 2019). Therefore, we would predict that only animals with sufficient energy reserves to cover the cost of fasting, molting, and cold-water contact would be able to go to sea during the molting period.

A high energetic cost during the molt increases the depletion of energy reserves in blubber, with possible fitness consequences, such as lower survival or reproductive success for seals (Guinet et al. 1998; Crocker et al. 2001). Climate in the Southern Ocean is rapidly changing, and environmental conditions are known to impact heat loss and molting phenology in phocids (Sato et al. 2003b; Walcott et al. 2020). In this context, understanding how energetic constraints and individual strategies may help reduce metabolic costs of animals during key stages of their lifecycle is important. While it is commonly agreed that molting SES remain on land and rely on their reserves, breaking the fast has already been suggested as a mechanism to mitigate physiological costs while molting by restoring blubber reserves or limiting metabolic water production (Boyd et al. 1993). However, few studies examined movement and potential drinking or feeding behavior in this species throughout the molt. One way to investigate at-sea feeding or drinking behavior is to combine stomach temperature measurements with time-depth recorders (TDRs). This allows detection of possible cold water or prey item ingestion through stomach temperature changes and to record the depth and location of ingestion events. This approach has previously been used in seabird research (penguins, cormorants, albatrosses (Wilson et al. 1992; Pütz et al. 1998; Charrassin et al. 2001; Catry et al. 2004), and captive or non-captive pinnipeds (NES and Californian sea lions (Kuhn and Costa 2006; Kuhn et al. 2009)), but not during the molt.

In this study, we investigated the behavior of adult female SES during the molt. Females were instrumented with TDRs to document diving behavior and stomach temperature pills to document ingestion events. We hypothesized that female SES would remain on land, either in mud pools or on the beach, fasting, at least in the early stages of the molt to minimize heat loss. If seals did spend time at sea, we investigated if weather conditions influenced this behavior. Last we hypothesized that only females in good body condition would spend time at sea, as they have sufficient energy reserves to compensate for high heat loss.

C. Results

Combining diving analysis and stomach temperature recording, the monitoring duration was 7.0 ± 2.9 days of analyzed data (between 2 and 14 days of recording). Females arrived on land with a body mass of 314.7 ± 41.4 kg (BMI of 59.4 ± 5.1 kg/m²). Molt stage when

animals were equipped was $54 \pm 25\%$ with 41% of the females caught at the initial stage ($n = 16$), 41% at the mid stage ($n = 16$), and 18% at the final stage of molt ($n = 7$). Body mass at the end of the monitoring averaged 294.5 ± 37.7 kg, resulting in a daily body mass loss of 3.2 ± 1.4 kg per day. At this point all females were at the final stage of molt, with more than 90% of hair renewed. During the monitoring period, the mean daily wind speed was 8.8 ± 2.7 m/s (ranging from 2.8 to 18.4 m/s), mean daily air temperature was 8.4 ± 2.4 °C (ranging from 4.4 to 15.3 °C), mean daily total sunshine duration was 355.3 ± 219.9 minutes (ranging from 0 to 855 minutes) and mean daily relative humidity was $70.2 \pm 7.7\%$ (ranging from 50.7 to 91.6%).

a. Diving and surface swimming behavior

Between 2014 and 2022, 39 female elephant seals were captured and monitored and 79% went to sea ($n = 31$). A total of 660 dives were recorded, grouped in 77 dive cycles (Table 5), for 39% of the monitored females ($n = 15$). Mean dive duration was 7.7 ± 3.6 minutes, with a mean time to reach maximum depth of 3.2 ± 3.1 minutes, followed by a mean surface phase duration of 2.2 ± 2.5 minutes. Dive cycles had an average duration of 1.4 ± 1.7 hours.

We detected a total of 375 surface swimming events with an average duration of 1.8 ± 2.6 hours grouped in 226 surface swimming cycles. Seventy-seven percent of monitored females ($n = 30$) performed surface swimming. Fourteen animals dived and surface swam. One female only dived.

On average, instrumented females spent time in the water (diving or surface swimming) every other day (% of monitored days with at-sea events = $49.2 \pm 23.9\%$). The amount of time they spent in the water ranged from 9.0 to 92.8% of the day.

At-sea behavior was more diurnal, as 57% of the dives and 66% of the surface swimming occurred during the daytime.

	Mean (SD)	Min - Max
Estimated time spent at sea per day per individual (min)	109.32 (98.3)	1.0 – 391.0
Mean number of at-sea events per day per individual	1.1 (0.8)	0.1 – 2.8
Total number of dive cycles per individual	5.1 (5.5)	1 - 22
Total number of dives per dive cycle	8.6 (10.8)	1 - 49
Total number of dives per individual	44.0 (55.0)	1 - 157
Maximum dive depth (m)	12.5 (7.3)	5 - 43
Dive duration (min)	7.7 (3.6)	0.2 – 22.5
Time at surface (min)	2.2 (2.5)	0.3 - 19.3
Surface swimming duration (h)	1.8 (2.6)	0.2 – 26.7

Table 5 : Summary of diving parameters from 31 female southern elephant seals during the molt

Among 31 female who went at sea, 15 dived (n = 660 dives, 77 dive cycles and 226 episodes of surface swimming; 2014-2022). 'At-sea events' include both surface swimming and diving.

b. Stomach temperature

Excluding temperature drops during the ingestions, mean at-sea stomach temperature was higher than on land (at sea = $37.1 \pm 0.3^\circ\text{C}$, on land = $36.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$, Student test, $t = -7.3$, $df = 49.6$, $p\text{-value} < 0.0001$). On land temperature analysis revealed hyperthermia events (from 1 to 3 events per individual) for 61.5% of the animals (n = 24), with a mean stomach temperature of $38.1 \pm 0.3^\circ\text{C}$. In total, 33 hyperthermia events of 110 ± 39 min were analyzed, and the first at-sea event occurred within 24.5 ± 21.0 hours after.

A summary of ingestion event variables is available in Table 6. We recorded a total of 87 ingestion events (Table 7), from 80% of individuals (n = 31 from total n = 39), with an average of 2.8 ± 2.1 ingestions per individual. Among these events, 70% occurred during the daytime.

A total of 10 ingestion events were detected during a dive (12%) and 42 events occurred during surface swimming (49%). Due to bad Argos locations, the remaining 37 events (39%) were not clearly characterized as at sea or on land, but were not associated with complete submersion of the animal according to wet and light sensors. These ingestion events could have happened strictly on land or in the tidal zone.

Results of the different methods from the literature (Kuhn and Costa 2006) are reported in Table 7 and based on the different methods, 25 to 53% of the ingestions were classed as potential prey ingestions.

	Mean (SD)	Min - Max
Minimum temperature T_2 (°C)	33.8 (2.0)	27.1 - 36.5
Delta of temperature $T_1 - T_2$ (°C)	3.4 (2.0)	0.5 - 10.7
Time to minimum temperature $T_1 - T_2$ (min)	11.3 (30.4)	0.2 – 182.2
Time to temperature recovery $T_2 - T_3$ (min)	36.9 (17.6)	9.2— 98.2
Area above the curve (s.°C)	2361 (1536)	151 - 6976
Index of rate of temperature recovery I (s.°C ⁻¹)	474 (840)	13 - 5213

Table 6: Summary of ingestion event variables from 31 female Southern elephant seals monitored between 2014 and 2022 (n = 87 events).

Method	Threshold for feeding events	Number of feeding events
Index of rate of temperature recovery I (s.°C ⁻¹)	I value > 250 s.°C ⁻¹	n = 39 (44%)
Area above the curve (s.°C)	Integral > 3000 s.°C	n = 25 (29%)
Time of temperature recovery (Δt between $T_2 - T_3$)	t_{rec} > 35 min	n = 46 (53%)
Delta temperature $T_1 - T_2$	ΔT > 4.7°C	n = 22 (25%)

Table 7 : summary of ingestion type based on Kuhn and Costa (2006) results, from 31 female southern elephant seals monitored between 2014 and 2022 (n = 87 events).

T_1 is the initial stomach temperature and T_2 the minimum temperature during the ingestion event.

c. *Determinants of female SES behavior*

At-sea behavior was not determined by initial physiological parameters; individual swimming score and the number of ingestions per female were influenced neither by BMI nor molt stage (Tables 8 and 9).

Environmental conditions played a role in SES behavior. We found a positive effect of temperature and a negative effect of wind speed on the probability of surface swimming (Table 10). Females tended to do more surface swimming during days of high temperature and days of low wind speed (Figures 31A and 31B). The probability of diving was not related to meteorological conditions (Table 10).

We also found a positive effect of sunshine duration on the probability of ingestion. The probability of recording individuals that ingested increased during days with high total sunshine duration (Figure 31C). The effect of relative humidity and wind speed on ingestion was not significant (Table 10).

Response variable	Behavior / group	Explanatory variables	χ^2	Df	P	AICc
PC1	Diving	Monitoring duration	13.43	1	< 0.001 ***	63.3
PC2	Surface swimming	Monitoring duration	0.34	1	0.56	56.5

*** : p-value < 0.001

Table 8: Best models to explain female southern elephant seals swimming score variability

ANOVA table of the best linear mixed effect models for at-sea behavior (PC1 and PC2): diving (n=15) or surface swimming (n=31).

Response variable	Location	Explanatory variables	Coefficient \pm SE	Z	P
Number of ingestions	At-sea	Intercept	0.54 \pm 0.43	0.95	0.20
		Monitoring duration	0.03 \pm 0.05	1.07	0.51
	On land	Intercept	-1.95 \pm 2.95	-0.66	0.51
		Monitoring duration	0.29 \pm 0.48	0.60	0.55

Table 9: Best models to explain female southern elephant seals ingestion behavior variability

Summary of coefficients and goodness-of-fit indices from the best models for the number of ingestions (generalized linear models fitted with negative binomial law), at-sea (n=32) or on land (n=7).

Response variable	Explanatory variables	Coefficient \pm SE	t	P
Daily proportion of diving females	Intercept	-1.7 \pm 0.8	-2.0	0.04 *
	Temperature	0.06 \pm 0.08	0.8	0.44
	Wind speed	-0.09 \pm 0.06	-1.4	0.16
Daily proportion of surface swimming females	Intercept	-1.6 \pm 0.6	-2.7	0.008 **
	Temperature	0.21 \pm 0.06	3.7	<0.001 ***
	Wind speed	-0.10 \pm 0.05	-2.1	0.03 *
Daily proportion of ingesting females	Intercept	-3.7 \pm 1.7	-2.1	0.03 *
	Sunlight	0.0010 \pm 0.0006	2.8	0.02 *
	Humidity	0.03 \pm 0.02	1.7	0.09
	Wind speed	-0.09 \pm 0.05	-1.8	0.07

* : p-value < 0.05; ** : p-value < 0.01; *** : p-value < 0.001

Table 10: Summary of coefficients and goodness-of-fit indices from the best models for environmental conditions effect on female southern elephant seals behavior

Generalized linear models were fitted with binomial (probability of ingesting) or quasibinomial (probability of diving and surface swimming) law. Females behavior is separated as diving behavior (n=15 females), swimming behavior (n=31 females), ingesting behavior (n=31 females).

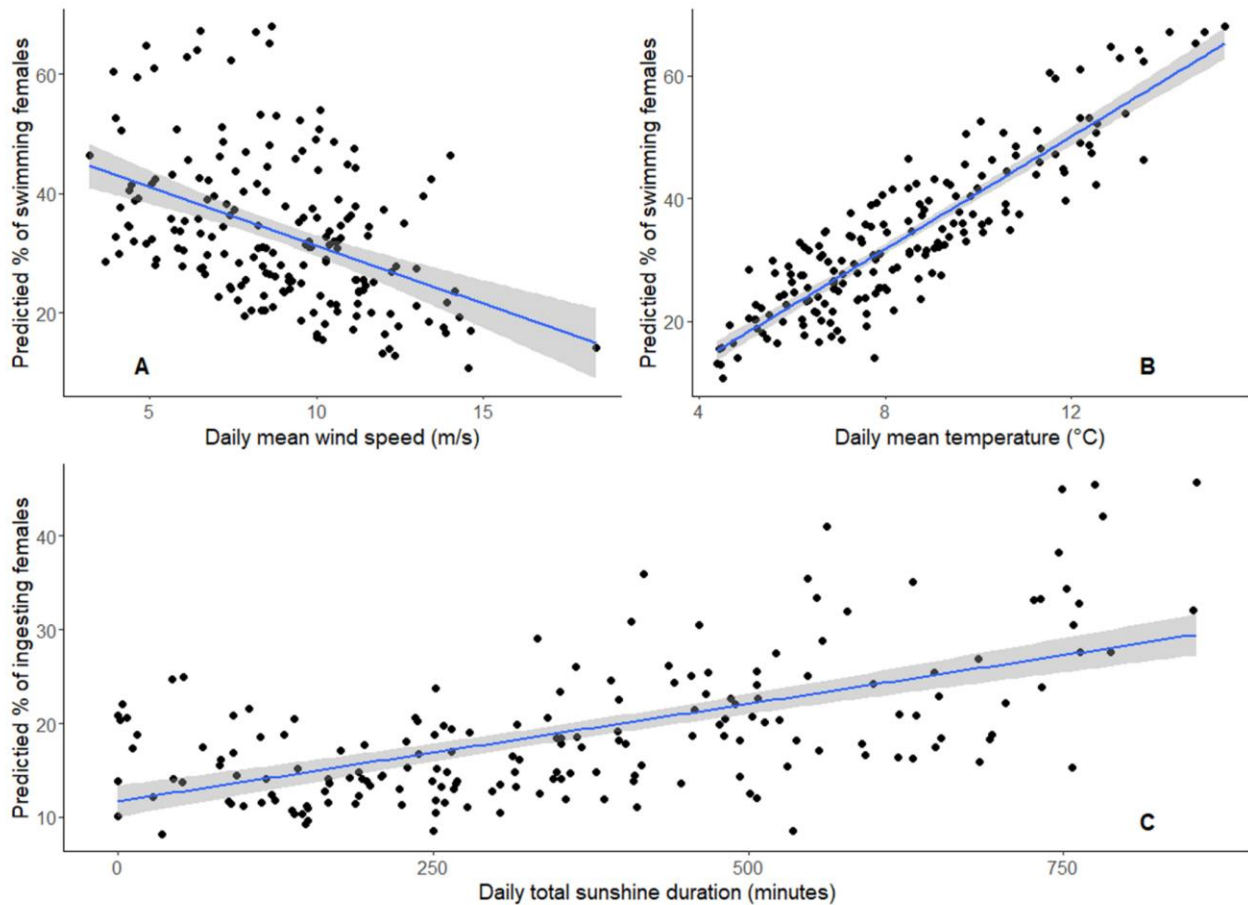


Figure 31: Relationships between meteorological conditions and behavior of female southern elephant seals

A: GLM predicted daily proportion of swimming females with daily mean wind speed (m/s). B: GLM predicted daily proportion of swimming females with daily mean temperature (°C). C: GLM predicted daily proportion of females that ingest with total daily sunshine duration (min/day).

d. Consequences on female SES condition

Female SES condition at the end of the molt was influenced by their behavior. For females going to sea, we found a positive relationship with the swimming score (PC1) and of the number of ingestions on daily body mass loss (Table 11). Females that dived and ingested more often were in better body condition at the end of the molt (Figures 32A and 32B).

Response variable	Location	AICc	Explanatory variables	X ²	Df	P
	On land	46.9	Mass start	0.38	1	0.53
			Length	0.27	1	0.61
			Monitoring duration	1.41	1	0.24
Body mass loss	At-sea	126.7	Mass start	0.02	1	0.89
			Length	0.37	1	0.54
			PC1	8.19	1	0.004 **
			Number of ingestions	4.42	1	0.03 *
			Monitoring duration	10.65	1	0.001 **

* : p-value < 0.05; ** : p-value < 0.01

Table 11: ANOVA table of the best linear mixed effect models for female southern elephant seals condition at the end of the molting period.

Body mass loss is used as a proxy for female southern elephant seals condition. Females are grouped by location: on land (n=6) or at sea (n=12).

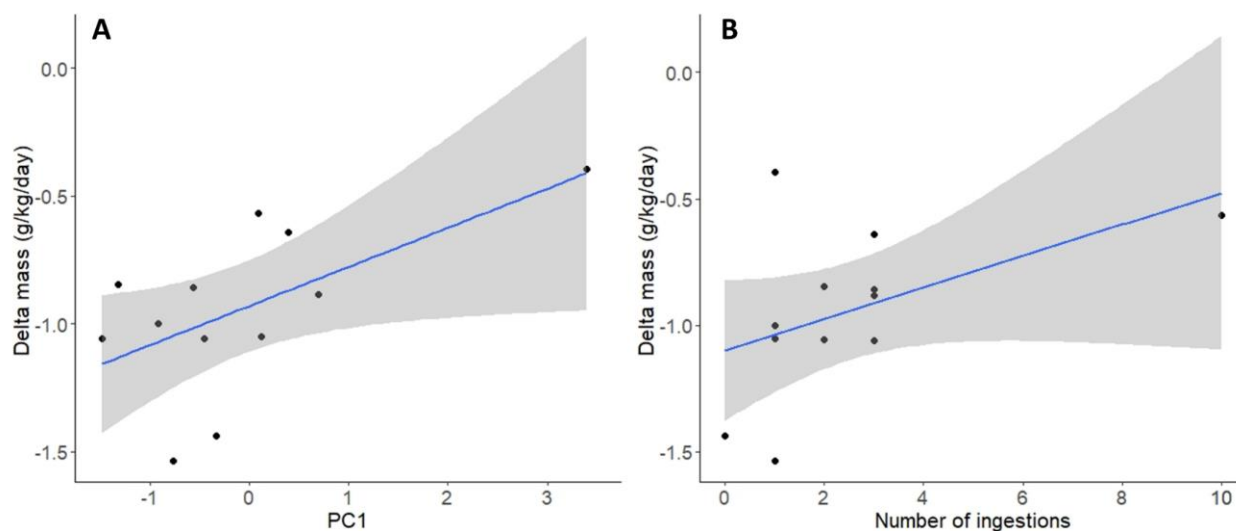


Figure 32: Daily mass loss per unit of body mass (g/kg/day) of female southern elephant seals according to their behavior.

A. Diving score (PC1 as individual values on the first component of the PCA) and B. Number of ingestions per individual. Individuals with high PC1 values perform more dives, that last longer, and show more surface swimming.

D. Discussion

Through the use of TDRs and STP, we identified surface swimming, diving, and ingestion events during the molt of female SES. To our knowledge, this study is the first to show evidence of SES breaking the fast during this energetically costly molt period.

We found no evidence of adverse effects of the STP on the behavior and body condition of animals at the end of the monitoring period. The STP assembly remains in the stomach, and the potential effect on satiety or ability to ingest was not possible to test. However, no such adverse effects have been described in experimental studies on pinnipeds (Kuhn and Costa 2006), probably due to the short retention time and small size of the STP compared to the volume of the stomach.

Our data revealed that female SES went to sea during the molt, as reported in Table 5. Indeed, nearly half of equipped individuals performed several dives, from 5 to 43 m.

To our knowledge, this behavior has not been reported yet in a species displaying a 'catastrophic' molt, including aquatic birds and mammals (Beltran et al. 2018). In marine mammals, pinnipeds undergoing such an extreme physiological event, such as elephant seals (Worthy et al. 1992; Boyd et al. 1993; Carlini et al. 1999, 2004; Liwanag et al. 2012), have always been thought to rely exclusively on energy reserves in blubber during the molt. All birds experiencing catastrophic molt are known to fast and avoid cold water contact, as demonstrated in cormorants (Enstipp et al. 2006) and penguins (Adams and Brown 1990). Few diving birds are known to break the fast and dive during the molting period, but they undergo a rapid simultaneous molt that is not reported as 'catastrophic' (common eider *Somateria mollissima* (Guillemette et al. 2007), lesser snow geese *Chen caerulescens caerulescens* (Ankney 1979), and grebes *Podiceps* sp. (Stout and Cooke 2003)). Therefore, our results reveal that SES may be the first recorded case of a species experiencing a catastrophic molt while also spending time at sea, despite the potential energetic costs.

Although female SES dove during their molting fast, diving parameters differ from diving foraging parameters. Indeed, most of the dives were not deeper than 11.5 m and lasted on average for almost 7 minutes, compared to average foraging dive depth and durations of 400 m and 30 minutes (Hindell et al. 1991; Campagna et al. 1999; McConnell et al. 2002; McIntyre et al. 2010), respectively. SES are known to perform deeper dives according to prey

distribution, migration, or predation avoidance (Le Boeuf and Laws 1994; Baird et al. 2005; Carlini et al. 2005). Cold water exposure at shallow depths during this period thus requires further investigations to better understand the reasons for such behavior.

According to our data, female SES dive during the molt but also ingest water and/or food, which challenges the paradigm of fasting. Indeed, stomach temperature clearly shows that 80% of diving females ingest water and/or prey. Such behavior has already been suggested (Boyd et al. 1993) as metabolic rate calculations based on water flux during the molting period indicate that water ingestion takes place, but no food was found in the stomachs of females. In our study, the type of ingestion (water and/or prey) remains unclear. Indeed, the results differ between the different methods of estimation, as supposed feeding events represent approximately 25 to 53% of ingestion events (Table 7), which is greater than previously described through behavioral and movement patterns (Horsburgh et al. 2008).

It is difficult to distinguish between water or prey ingestion events in pinnipeds. While index I values (index of the rate of stomach temperature recovery, see Method section) of less than $30 \text{ s} \cdot \text{C}^{-1}$ always denoted water ingestion for albatrosses (Catry et al. 2004), for pinnipeds, this distinction was more complicated (Kuhn and Costa 2006). In a previous experimental study, index I values for prey ingestion ranged from 55.1 to $4380.0 \text{ s} \cdot \text{C}^{-1}$, while water ingestion ranged from 37.8 to $764.0 \text{ s} \cdot \text{C}^{-1}$. The previous study used a threshold of $250 \text{ s} \cdot \text{C}^{-1}$ to distinguish fish from water consumption, as this value lowered the error rate of identification, but uncertainty remained (Kuhn and Costa 2006). We used the same threshold in our study but as sea surface temperature was different (around 14°C in the experimental study (Kuhn and Costa 2006), and 8°C in Kerguelen during the molting period (Testut et al. 2006)), it may distort variable calculations and so ingestion type. In our study, as 49% of ingestion events occurred during surface swimming (i.e., depth between 0 to 5 m), and regarding prey repartition (Carlini et al. 2005), half of ingestion events may likely involve water.

Across taxa, catastrophic molts in birds and mammals have always been associated with fasting (Beltran et al. 2018). It appears that SES may be the first species reported to break the fast during this energetically costly period, but why?

In this study, we found that meteorological conditions influenced the behavior of molting female SES. The weather effect on social thermoregulation and habitat preference has already been described during the molt in this species (Chaise et al. 2017, 2018) .

Meteorological conditions influence the behavior of molting pinnipeds, such as haulout frequency and time spent on land, but it has only been investigated in species of phocid seals that do not undergo a catastrophic molt and keep foraging at sea during this period (Sato et al. 2003b; Walcott et al. 2020). Our data revealed that during days with low wind speed and days with high air temperature, female SES tend to swim more often. The same parameters were reported to influence the number of molting Weddell seals (*Leptonychotes weddellii*) hauling out on ice, but surprisingly, it was the opposite behavior, as Weddell seals tend to remain in the water when wind speed is elevated and air temperature are low (Sato et al. 2003b). Meteorological conditions strongly differ between Kerguelen and Antarctica, where Weddell seals are found. If daily wind speed is nearly equal (8.8 ± 2.7 m/s, ranging from 2.8 to 18.4 m/s in Kerguelen and 5.3 ± 4.2 m/s, ranging from 0.7 to 19.8 m/s in Syowa station), air temperature does not go below 0°C during the molting period in Kerguelen (8.4 ± 2.4 °C, 4.4 to 15.3 °C versus -8.3 ± 5.3 °C, with a maximum of 1.7 °C in Syowa). Weddell seals and SES are not exposed to the same environmental conditions during their molting period, but both could lead to thermal discomfort. The thermoneutral zone (TNZ) is a range of temperature between a lower and upper threshold, between which the metabolic cost associated with thermoregulation is the lowest (Kingma et al. 2012). Out of this range, animals are hypo- or hyperthermic, resulting in higher metabolic costs (thermogenesis) or heat dissipation (thermolysis) to avoid deleterious effects of overheating on the organism, such as water loss, cell-damage, and disruption of reproductive function (Hansen 2009; Alsharif 2022). Consequently, any supplementary energetic cost required for thermogenesis or thermolysis in both hypothermia or hyperthermia may increase energy depletion (Guinet et al. 1998; Crocker et al. 2001). Moreover, as phocid seals obtain their water requirements from the metabolism of fat reserves (Costa et al. 1986; Ortiz et al.), compensating for metabolic water loss triggered by heat stress could be extremely costly. Going to sea could be a way to avoid extreme weather events when seals are out with their TNZ, leading to thermal discomfort and to other physiological effects. As SES remain in a warmer environment, they should avoid overheating and minimize elevated metabolism and increased water loss on warmer days, while Weddell seals, exposed to colder conditions, would go to sea to reduce metabolic costs of thermogenesis in bad weather conditions.

We were not able to obtain solar radiation in W/m^2 , but instead used sunshine duration (minute per day), which is a less precise estimate of the thermal power received at the surface

of the skin. The effect of sunshine duration was not significant in initiating at-sea movements in our females, but solar radiation was already reported to be positively correlated with swimming behavior during the breeding period of females NES (Codde et al. 2016) and other pinnipeds (Campagna and le Boeuf 1988; Twiss et al. 2002). Heat dissipation is maximized by peripheral vasodilatation and by an important thermal gradient through thermal windows (surface temperature-air temperature (Mauck et al. 2003)). If peripheral circulation is already increased during the molt, and solar radiation heats blood at the skin surface, heat loss by radiation or convection may not be sufficient to cool down and prevent thermal stress during warm days. Because of the high cooling capacity of water, going to sea would be the most efficient method to dissipate heat (Campagna and le Boeuf 1988). This suggests that SES could be subject to thermal stress and go into the water to avoid overheating, especially during the molt when vasodilatation at the skin surface occurs.

Total sunshine duration was correlated with the number of ingestion events in our females. As ingestion events were rare during a dive (12% of ingestion events), this would be more consistent with drinking than foraging. Drinking at sea has already been reported in gray seals (Twiss et al. 2002) and would be in line with a behavioral response to thermal stress to avoid supplementary metabolic costs and blubber depletion needed to restore hydration if they remain on land.

Although the majority of our results confirm a behavioral response to thermal stress, few hyperthermia events were detected (from 1 to 3 events for 61.5% of the animals) and were not related to an immediate at-sea event (first at sea event within 24.5 ± 21.0 hours after a detected hyperthermia). In breeding NES, a strong effect of solar radiation on surface temperature was reported and was related to at sea movement (Codde et al. 2016). As heat is gained by radiation, an increase in surface temperature may be most relevant to hyperthermia events. Considering the blubber thickness in phocid seals (Ryg et al. 1990; Slip et al. 1992a; Mellish et al. 2013), behavioral responses to high surface temperature (i.e. going to sea) may occur rapidly after an increase in surface temperature, probably before stomach temperature increased through heat diffusion by conduction. This may question the relevance of using stomach temperature for detecting overheating in response to environmental factors in this species.

Finally, our data did not show any link between at-sea movements and stage of molt, where we expected more at sea movements when heat loss is reduced at the end of the molt

(Walcott et al. 2020). This may indicate that heat loss and the metabolic cost of cold-water immersion are not limiting factors for this behavior, in line with possible thermal stress events and the need for heat dissipation rather than conservation.

Considering high energetic constraints triggered by cold water contact and previous studies reporting that body condition could influence molting duration (de Kock et al. 2021), we thought female SES with a high BMI would be less constrained by energetic trade-off and spend more time at sea than females in lower body condition. However, our data did not find any evidence that body condition influenced the behavior of molting females, neither at-sea movements nor ingestion events. Molt stage also did not influence female behavior despite less energetic constraints at the end of the molt (Walcott et al. 2020), which suggests an environmental rather than a physiological driver of this behavior.

Moreover, going to sea during the molt might not be as costly as we believed. Daily specific body mass loss of our females was a good indicator of energetic loss during the molt. A previous study reported that the mass loss of female elephant seals averages 4.7 kg/d, during 25 to 30 days of molting (Boyd et al. 1993). Surprisingly, females that went to sea did not lose more body mass than females remaining on land but had higher stomach temperatures, which could reflect a higher metabolic rate, hence higher energy loss at sea. However, previous studies on molting Arctic seals (ringed *Pusa hispida*, spotted *Phoca largha*, and bearded seals *Erignathus barbatus*) reported that metabolic rates were similar when resting in air and water (Thometz et al. 2023). An increase in stomach temperature might be detected at the onset of diving as a result of heat generated by muscles during swimming (Wilson et al. 1995), which questions the reliability of STP to estimate metabolic variation.

According to our results, females may benefit from trips to sea. Among the females that went to sea, the more they dived and ingested, the less mass they lost. The diving profile of these females was very similar to foraging diving profiles, suggesting they could ingest prey items during their trip. Although depth and duration are very different from typical foraging dives, high shallow biomass sites related to phytoplankton bloom have been located in the vicinity of the Kerguelen Plateau during spring and summer, with a peak between December-February (Rembauville et al. 2017). Many studies have shown that juvenile SES perform shallower dives during their first year at sea and that their diet is mainly composed of krill (*Euphausia sp.*) (Walters et al. 2014; Lubcker et al. 2017; Orgeret et al. 2019b). As molting females are

constrained to stay close to the island until the end of the molting process, they could be limited by the bathymetry and benefit from shallower prey such as krill, which could restore body reserves if the molting period is too long or too costly to rely on body fat. As these are very small prey items, that could also explain the difficulty of distinguishing between water and prey items from ingestion curves. On the other hand, SES usually feed on Antarctic krill which is bigger. As no precise information on what was ingested could be determined with this method, this question requires further investigation. Other methods such as sonar tag or video camera (Lawson et al. 2015; Goulet et al. 2019; Adachi et al. 2021) could collect further important information which would determine precisely what is ingested during these trips to sea during the molt

Energetic constraints and metabolic costs associated with molting behavior, as well as the possible fitness consequences, still remain unclear.

Whether seals remain on land to limit heat loss and metabolic costs from unavoidable perfusion during the molt or whether this behavior allows a faster molt remains uncertain. Avoiding cold water would limit energy expenditure and blubber depletion, while a faster molt would limit fasting duration and extend the next foraging period (de Kock et al. 2021), resulting in higher at-sea body condition, survival, and reproductive success (Guinet et al. 1998; Crocker et al. 2001). Previous studies on ringed and spotted seals did not report supplementary energy expenditure at sea (Thometz et al. 2023), and our data did not show any difference in body mass loss between at-sea and on-land females. This highlights that the physiological cost of molting, i.e., for tissue regeneration, may be greater than the cost of heat loss in cold water. Spending an extended time at sea would be costly by slowing down the molt. Unfortunately, because the molting stage is difficult to determine and to assess without regular visual checks, we were not able to investigate to what extent the amount of time spent at sea influenced the duration of the molting period. This would be of strong interest as this equilibrium of haul out frequency and molt duration may be compromised by current global changes and rapid warming at the poles (Gille 2002). Thermal stress could affect the behavior of seals, increasing molt duration and causing a greater depletion of blubber reserves. In this context, knowing how molt duration impacted ingestion behavior in females is of interest. Seals with a slower molt may need to restore their body reserves to make sure they end the molting process with sufficient body condition to ensure good foraging success and survival

during their next post-molt foraging trip. Thus, the link between energetic constraints, molting phenology, and behavior of SES on land needs further investigation.

This study found that female SES travel at sea during the molt, performing shallow and short dives or surface swimming, and these behaviors were associated with ingestion events. This shows that, SES frequently break the fast and may not always remain on land relying exclusively on blubber reserves. While environmental factors responsible for heat stress were determinants of swimming behavior and likely water ingestion, physiological and fitness consequences of diving and ingestion events need to be further investigated. This will allow a better understanding of the energetic constraints that drive this critical period and the extent to which thermal stress may impact SES. Considering rapid changes in polar climates and possible fitness consequences, the effect of warmer conditions is of particular interest for the conservation of polar phocids.

E. Methods

a. Data collection and analysis

All scientific procedures were approved by the Ethics Committee of the French Polar Institute. Data were collected during the austral summer molt (December-February) between 2014 and 2022. The field work took place at three colonies within the Kerguelen Archipelago: Pointe Suzanne (49°26'S, 70°26'E) between 2014 and 2019, Estacade (49°16'S, 70°32'E) in 2020 and 2022, and Port-Aux-Français (49°34'S, 70°21'E) in 2021.

Female elephant seals were captured during the molt and anesthetized using tiletamine and zolazepam (Zoletil® 100 (McMahon et al. 2000; Chaise et al. 2017)). Individuals were equipped with devices provided by Wildlife Computers (USA): TDRs (TDR10-LX-340, 57 x 38 x 30 mm, 75 g in air), Argos satellite transmitters (SPLASH10-L-309D, 76 x 55 x 32 mm, 125 g in air) and Stomach Temperature Pills (TDR-STP-207D, 63 x 21 mm, 31 g in air). Argos location was obtained each day from resulting transmissions. Locations are classified as 3, 2, 1, 0 according to the error radius (<250m, 250-500m, 500-1500m, >1500m). We show an example of good at-sea locations in Figure 33. Stomach temperature pills (STP) were placed in the stomach under anesthesia using a lubricated flexible tube, and SPLASH10/TDR10 tags

were glued on the head with epoxy bi-component glue (Araldite®). Data-logging tags were set to measure depth (resolution of 0.5 m with an accuracy of 1% of reading), light-level (range from 5×10^{-12} W/cm² to 5×10^2 W/cm² with a resolution of 20 units/decade), stomach temperature (resolution: $\pm 0.1^\circ\text{C}$; accuracy: $\pm 0.3^\circ\text{C}$), and wet/dry sensor every 10 s. Tags were retrieved at recapture, while remaining STP were naturally ejected later at sea or on land. Individuals were recaptured between the completion of the molt and their final departure to sea.

Of the 55 instrumented seals, we obtained stomach temperature data over 2 days from 39 of the seals. Data were analyzed starting from 6 hours following capture (to discard the effects of anesthesia) until the STP was ejected or the seal was recaptured. For each individual, the molting stage was visually estimated at both capture and recapture and during daily monitoring (0-40%: initial stage; 50-80%: mid stage; >90%: final stage, as described in previous study (Chaise et al. 2018)). Eighteen of the instrumented seals were weighed at capture and recapture, allowing us to calculate the daily mass loss (kg/day). Length (m) was calculated from the mean length measured at capture and recapture. From this, we calculated a body mass index (BMI, kg/m²).

Local meteorological data was retrieved from Météo-France base station archives in Port-aux-Français (Kerguelen archipelago). These data included temperature under cover ($^\circ\text{C}$), relative humidity (%), sunshine duration (min), and wind speed (m/s). Data were recorded per hour and summed per day for sunshine duration.

Data were processed and analyzed using “pandas”, a Python data analysis package (versions: Python 3.10; pandas 1.5.0), and R software (R version 4.1.2).



Figure 33: At-sea movement recorded in one monitored female southern elephant seal at mid-stage of molt in 2016, from the site of Pointe Suzanne (49°26'S, 70°26'E)

The maximum dive depth of 18.5 m. Red arrows represent the direction of travel between the grey dots (Argos locations).

b. Diving pattern analysis

Because Argos locations were poor, diving patterns were analyzed only from depth, light level, and wet/dry sensor data. When necessary, a depth-zero correction was made on land at the time of capture. Diving behavior was determined using a Python algorithm especially developed for this study (Hex·Data, France). To make sure light level variations involved depth and not daily changes, day-night light-level variations were removed using a seasonal decomposition function based on moving averages (function "seasonal decompose" from Python package "statsmodels"; version 0.13.2). We combined a depth threshold of 0.5 m and a "wet" display to spot the start of a dive. To distinguish mud pools (wallows) from sea-water baths, we made sure the light level varied by more than 5 units (values ranging from 0 to 255) during the presumed dive.

At-sea behavior was characterized by 1) a submerged phase, 2) a maximum depth, and 3) a surface phase. We distinguished surface swimming and diving behavior according to maximum depth. Surface swimming was defined to occur between 1 and 5 m, with a maximum surface time of 20 minutes between two submerged phases (based on our own data exploration, Figure 34A). Dives were described by a descent, a bottom, and an ascent phase with a maximum depth greater than 5 m and showed different profiles (Figures 34B,

34C, 34D). A dive cycle was characterized by at least two successive dives separated by less than 20 minutes at the surface, as surface duration intervals showed a break around 17 minutes. Events were described by their mean duration, mean and maximum depth, and frequency.

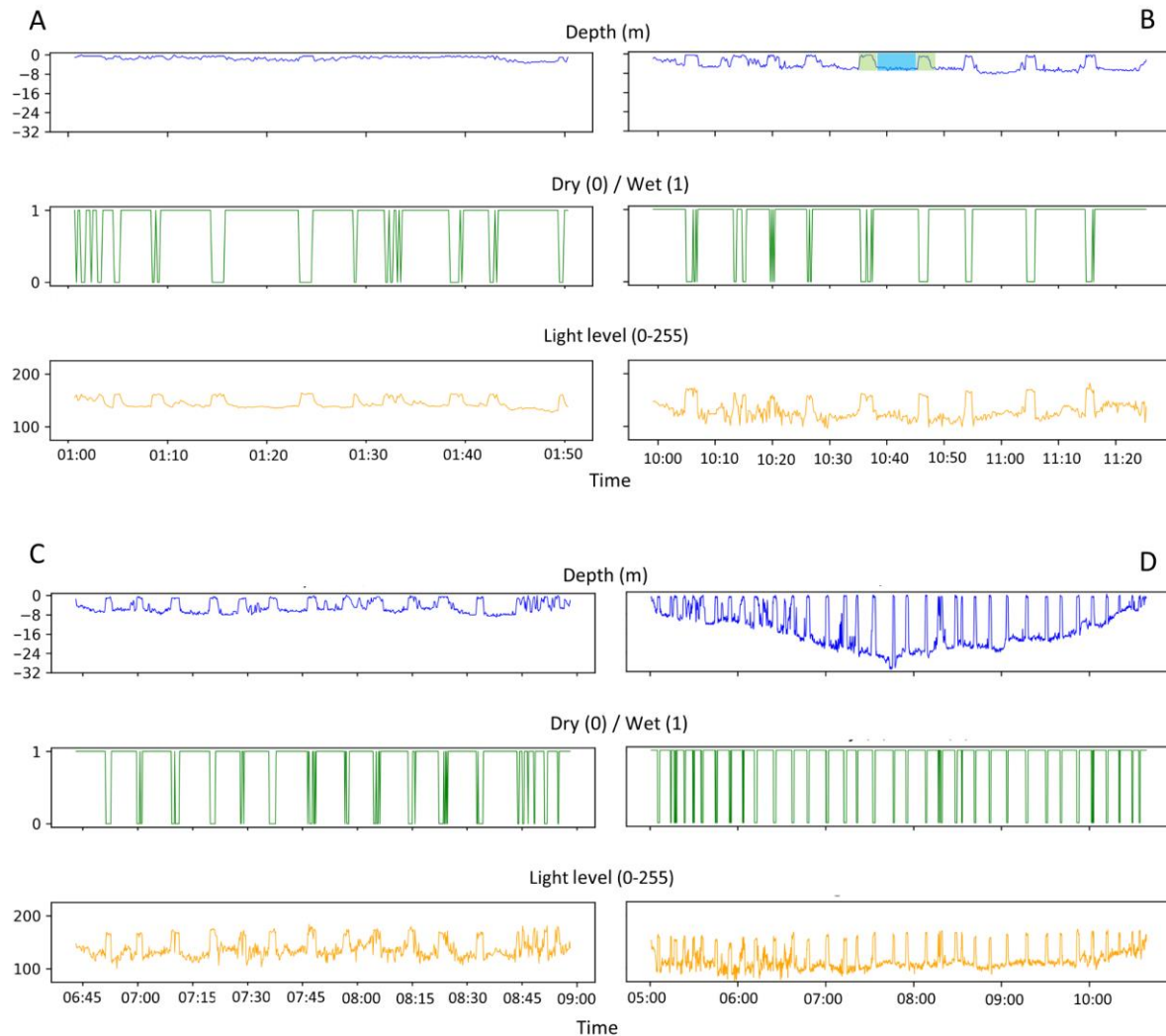


Figure 34: Diving parameters during different at-sea behaviors; diving or surface swimming.

Surface swimming occurs between 1 and 5 m, while a dive is characterized by a maximum depth of more than 5 m. A dive or a surface swimming cycle is characterized by at least two successive dives or surface swimming separated by less than 20 min at the surface. Fig 3A. represents a surface swimming cycle and different profiles of dive cycles (B, C, D) of a female southern elephant seal in 2017. Each dive is defined by the succession of a submerged phase (blue area) and a surface phase (green area) (B).

c. Stomach temperature analysis

Ingestion events were identified by a sharp decline in stomach temperature followed by a logarithmic increase as reported in the method section.

T_1 , T_2 and T_3 are illustrated in Figure 35A. Events that were close together were merged into a single event. Each ingestion event was assigned to a female behavior: on land, diving, surface swimming, or unknown. Following the algorithm analysis, a visual check of ingestion curves led to the removal of 12 anomalous events (non-logarithmic curves or abrupt variations consistent with STP measurement errors). The STP was considered lost when the stomach temperature reading remained constant for at least 3 hours. Outliers were deleted using a filter based on the rolling average and bounded by the 1st and 3rd quartiles.

To examine STP temperature drift over time, we downsampled the data to one measurement every 15 minutes (factor of 100) and examined the trend in temperature over time using Kendall's tau correlation coefficient. The temperature increased for 16 individuals, decreased for 12 individuals, and did not change for the remaining 11 individuals. The mean absolute value of the correlation coefficient was $\tau = 0.11 \pm 0.09$, with the mean absolute value of the slope estimator $s = 5.1 \cdot 10^{-7} \pm 6.2 \cdot 10^{-7}$, corresponding to a variation of $\pm 0.1^\circ\text{C}$ every 10 days (for 72% of the 39 individuals; $n = 31$). Therefore, based on the temperature pill accuracy ($\pm 0.3^\circ\text{C}$) and mean survey duration (over a week), we considered that the signal drift was trivial and chose not to apply a correction.

STP were synchronized with diving patterns, that were filtered with a seasonal decomposition of light-level function to cancel the effect of the day/night cycle. As this function required 48 hours to work, six animals with less than 2 days of recording were discarded ([R documentation](#)). Eight seals ejected the pill before recapture. In total, 80% of monitored seals were recaptured with the temperature pill still recording ($n = 31$), with an average retention duration of 7.2 ± 2.9 days.

To distinguish between water and prey ingestions, we followed two published methods (Catry et al. 2004; Kuhn and Costa 2006), using the index of the rate of stomach temperature recovery (I , $\text{s} \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$), calculated as follow:

$$I = t_{0.5} / (T_1 - T_2)$$

where T_1 ($^\circ\text{C}$) is the initial stomach temperature before the drop due to the ingestion of sea water, T_2 ($^\circ\text{C}$) is the minimum temperature reached during the drinking or feeding event, and

$t_{0.5}$ (seconds) is the time from the beginning of the temperature decrease to the point of half recovery (half-way temperature between initial T_1 and minimum T_2 ; Figure 4A). The threshold of $250 \text{ s} \cdot \text{°C}^{-1}$ was used to distinguish between fish and water consumption, as previously reported (Kuhn and Costa 2006).

We also calculated the area above the curve (integral) of drop in stomach temperature during ingestion events, as it may be related to ingested mass in NES, based on the trapezoid method (Wilson et al. 1995; Kuhn and Costa 2006) (for more details, see Supplementary Figure 36).

Ingestion events were compiled with dry/wet and light sensor to identify whether they occurred at sea or on land (mud pools).

We investigated on-land stomach temperatures to detect hyperthermia events that could have initiated at sea movements. We calculated the mean stomach temperature on land ($36.6 \pm 0.2 \text{ °C}$) and considered hyperthermia if values were higher than the 97.5% quantile for more than one hour.

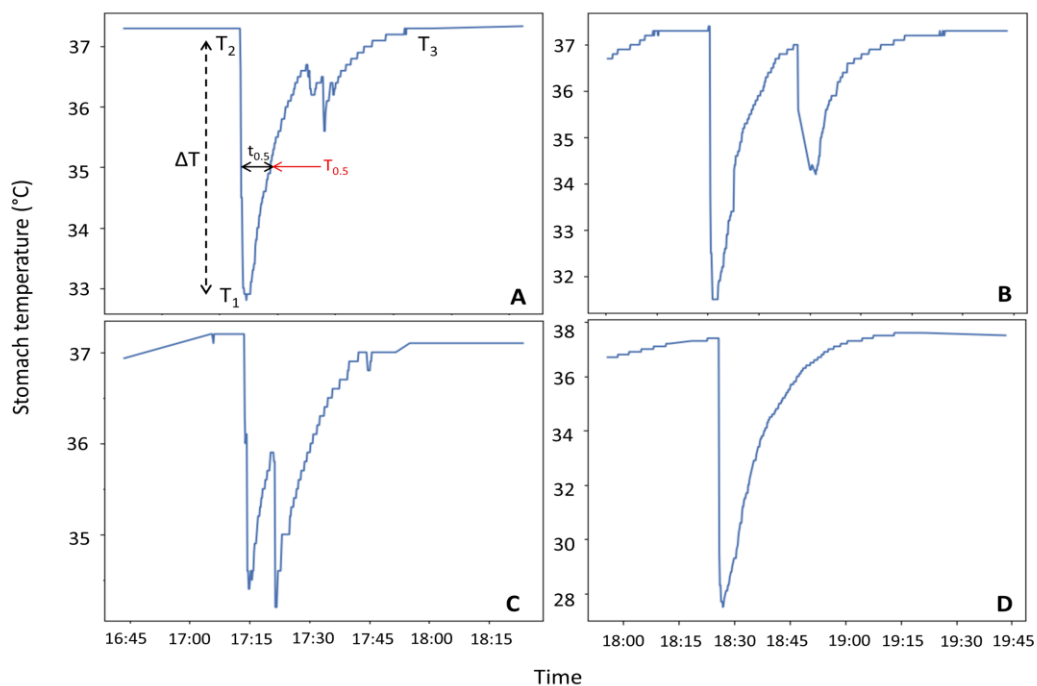


Figure 35: stomach temperature variations (°C) during ingestion events recorded for two female Southern elephant seals in 2014 and 2019.

A: standard temperature variation. B, C: double ingestions. D: extreme temperature variations

T_1 is the initial temperature, T_2 the minimum temperature, T_3 the recovery temperature, ΔT the difference of temperature between T_1 and T_2 , $T_{0.5}$ the half-way recovery temperature between T_1 and T_2 ($T_{0.5} = T_2 + \Delta T/2$) and $t_{0.5}$ the time of half-way recovery (black arrow: $t_{0.5} = t_{T_{0.5}} - t_{T_1}$). The area above the curve (integral) was calculated from the asymptote.

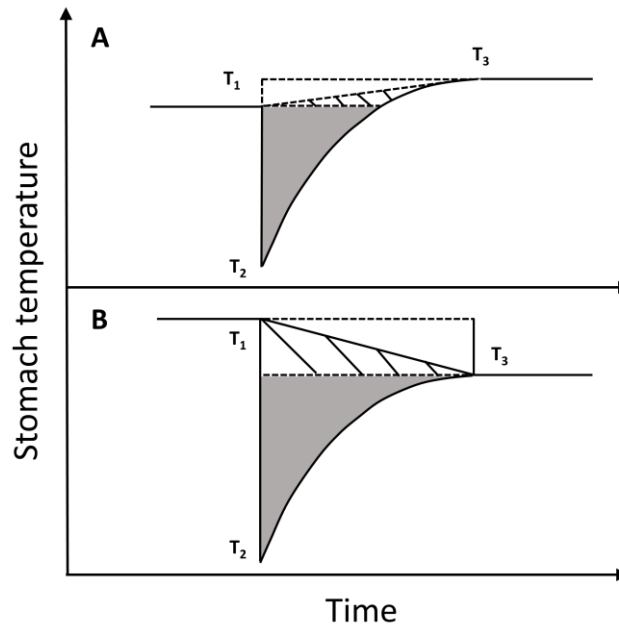


Figure 36: method used to calculate the area above the curve of drop in stomach temperature during ingestion events.

We used the equation:

$$Area_{event} = |area_{trapezoid}| - (|T_3 - T_1| * (t_3 - t_1)) / 2$$

Where $area_{trapezoid}$ was calculated using the integral function "trapezoid()" from Python package "scipy" (version: 1.9.1), and T_1, T_3 (°C) and t_1, t_3 (s) are respectively the stomach temperature and time at points T_1 and T_3 (start and end of the ingestion event).

Recovery temperature T_3 can be greater than initial temperature T_1 (A) or lower (B) (based on Kuhn and Costa, 2006): the grey area below corresponds to $area_{trapezoid}$ calculated with the trapezoid method, and hatched area corresponds to half of the additional rectangular area calculated $(|T_3 - T_1| * (t_3 - t_1)) / 2$.

d. Statistics and Reproducibility

Statistical analyses were performed with R software (R version 4.3.1). Results are expressed as mean \pm standard deviation (minimum to maximum), unless otherwise specified. As at-sea behavior and diving parameters were variable among individuals, we defined a swimming score to determine the amount of time spent in water, including surface swimming and diving. To do so, we used a centered-scale Principal Component Analysis (PCA) to account for diving parameters (number of dives per individual, number of surface swims per individual, and mean dive or surface swimming duration). The first component (PC1) accounted for 59.0% of the variation, and the second component (PC2) accounted for 23.8% of the variation. PC1 was characterized by the number of dives, the number of surface swims, and the mean dive

duration. PC2 was defined by the surface swimming duration. We decided to define three groups according to the behavior of each female (diving, surface swimming, on land, Figure 37) in the models when group size was sufficient. As an animal's behavior was well separated by the PCA, PC1 values were kept as a proxy of swimming score for the group Diving, and PC2 for the group Surface swimming.

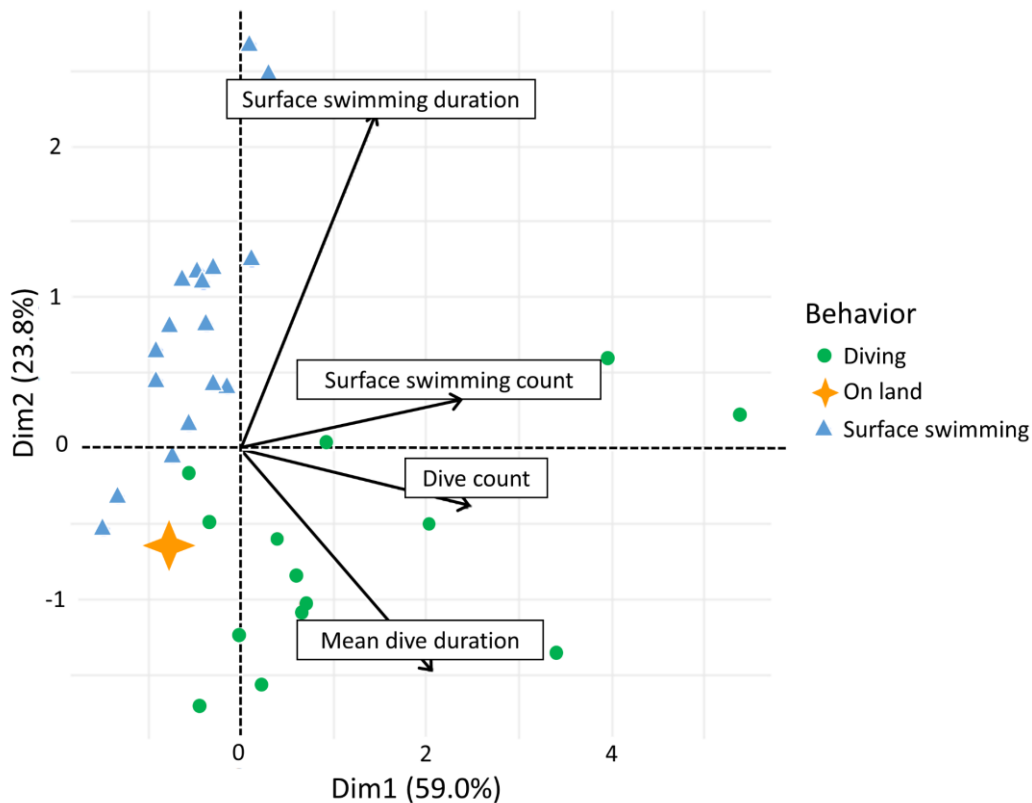


Figure 37: principal Component Analysis (PCA) including number of dives per individual, number of surface swims per individual, and mean dive or surface swimming duration.

The first component (PC1) accounted for 59.0% of the variation and the second component (PC2) accounted for 23.8% of the variation. PC1 was characterized by number of dives, number of surface swims, and mean dive duration. PC2 was defined by surface swimming duration. Individuals are reported on the PCA and identified through their behavior (red circles, diving; orange star, on land; blue triangle, surface swimming only). Orange star represents eight individuals on the same point.

To investigate the reason for variability in SES swimming score, we used linear mixed models (LMM) with molting stage when equipped, BMI, monitoring duration as explanatory variables, PC1 (group diving) or PC2 (group surface swimming) as response variables. To determine if physiological parameters influenced ingestion behavior, we ran a generalized

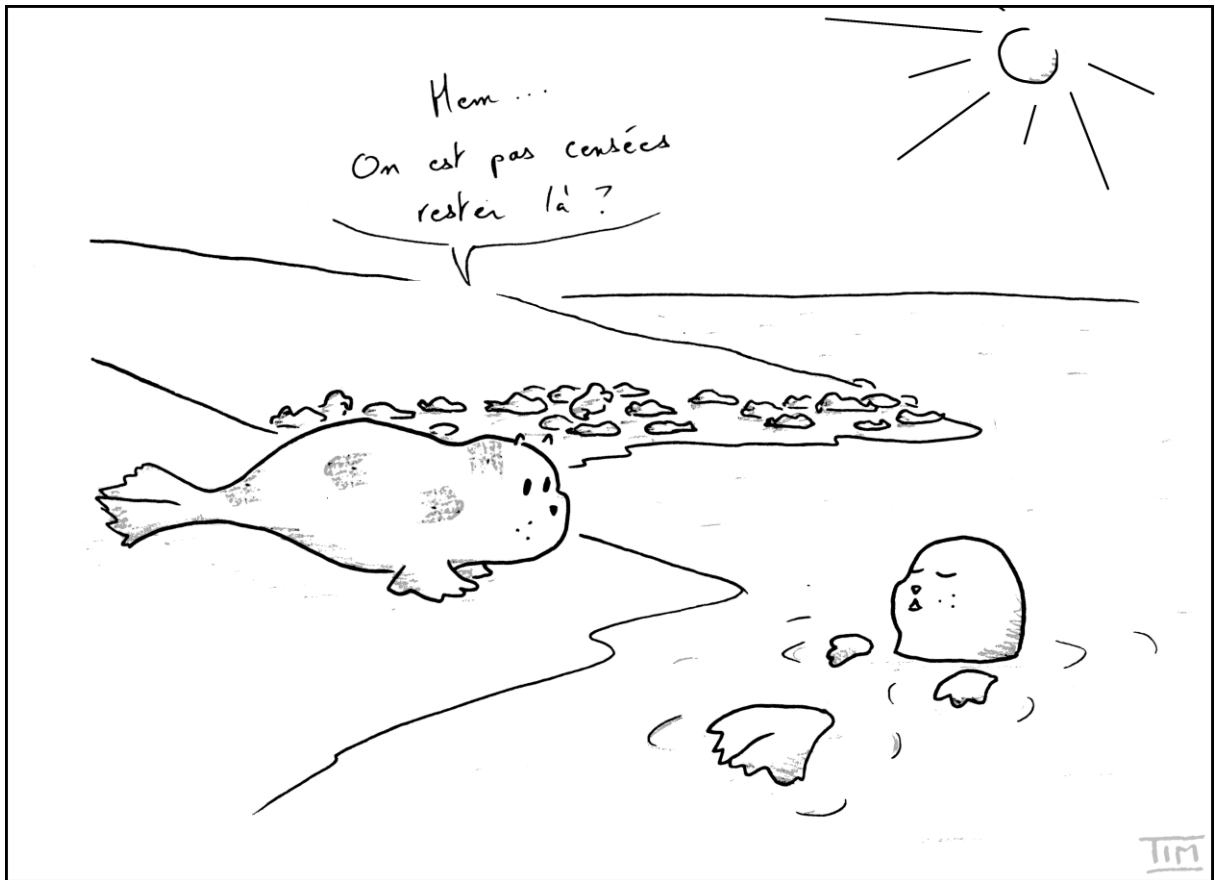
linear mixed model with molting stage when instrumented, BMI, monitoring duration as explanatory variables, ingestion counts per individual as response variable. To correct for overdispersion, we used a negative binomial distribution (Payne et al. 2018). Each time, animal ID was used as random. For each model, an ANOVA type II was performed (Anova function in R library 'car').

Then, to determine if weather influenced when seals spent time in the water we ran a generalized linear model with temperature, relative humidity, sunshine duration and wind speed as explanatory variables, and the daily probability of female SES diving, surface swimming, and ingesting as response variables. Models were fitted with a binomial distribution (logistic regressions for probabilities), checked for overdispersion, and adjusted with a quasibinomial distribution if necessary.

Last, to determine if changes in SES behavior and molt phenology influenced their condition before their next travel, we used LMM with the swimming score, ingestion counts, body mass/length and molting stage at capture, and monitoring duration as explanatory variables, body mass loss (kg) as response variable, and animal ID as random.

F. Acknowledgements

The overall study was funded by the Institut Polaire Français Paul-Emile Victor (IPEV Programs 1037 HENERGES and 1201 Cycleleph) and doctoral fellowships of French Ministry of Higher Education and Research. We thank the Terres Australes et Antarctiques Françaises for logistic support, and the fieldwork volunteers who helped in tags deployments and retrievals (in alphabetic order; Hassen Allegue, Jérôme Badaut, Batshéva Bonnet, Antoine Bertault, Laureline Chaise, Laura Charlanne, Océane Cossu-Doye, Lucas Delalande, Liane Dupon, Susan Gallon, Manon Ghislain, Christophe Guinet, Adélie Krellenstein, Alex Lathuilliere, Marion Nebot, William Paterson, Julie Pauwels, Baptiste Picard, Erwan Piot, Manon Potin, Camille Toscani, Martin Tournier, Yakov Uzan, Coline Vulliet, Pauline Vuarin). D.M was funded by the Carnegie Trust for the Universities of Scotland.



CHAPITRE 2 :

ADAPTATIONS COMPORTEMENTALES DES JUVÉNILES

ÉLÉPHANTS DE MER DU SUD FACE AUX CONTRAINTES

PHYSIOLOGIQUES ET ENVIRONNEMENTALES

PENDANT UNE PÉRIODE COÛTEUSE EN

ENVIRONNEMENT CHANGEANT, LE POST-SEVRAGE



©Laura Charlanne

I. Introduction

Dans le Chapitre 1, nous décrivons un nouveau comportement de mise à l'eau et d'ingestion chez des éléphants de mer adultes en réponse aux contraintes de l'émersion et de la réalisation d'un événement physiologiquement extrêmement coûteux. En effet, les variations météorologiques viennent rajouter une contrainte supplémentaire pouvant augmenter les pertes énergétiques des animaux, déjà contraints par la restriction calorique et la demande énergétique importante de la mue. Cela pose la question de la gestion de la balance énergétique à un autre moment du cycle, également contraignant. Considérant le contraste important entre la vulnérabilité et l'importance des juvéniles à l'échelle de la population, il est de premier intérêt de s'intéresser à la période de post-sevrage, première période du cycle de vie en émersion, d'environ trois semaines, en restriction calorique et avec l'enjeu de se préparer pour le premier voyage en mer.

Tout comme le Chapitre 1, l'objectif de cette partie est d'étudier le comportement à terre de jeunes éléphants de mer du sud pendant le post-sevrage, période critique pour la mise en place des futures capacités de plongée (réponse à l'hypoxie et au stress oxydant), en prenant en compte l'effet des contraintes environnementales. En complément, il était prévu un suivi hebdomadaire de la composition corporelle des animaux par dilution isotopique, afin de caractériser précisément la dépense énergétique des animaux pendant cette période. La condition corporelle au sevrage a été conservée et incluse dans les analyses. Cependant, en raison de mises à l'eau régulières et d'incertitudes sur la prise de boisson, et donc de l'état d'hydratation des animaux, les données de condition corporelle pendant la suite du suivi (J7, J14 et J21 après le sevrage) n'ont pas pu être exploitées dans cet article. Cependant, ces données mises de côté ont été incluses et discutées dans la discussion générale.

II. Résumé en français de l'Article 2

Les éléphants de mer adultes réalisent des plongées extrêmes en continu lorsqu'ils sont en mer. Les juvéniles passent brusquement d'un mode de vie terrestre à un mode de vie aquatique après une courte période post-sevrage. Pendant celle-ci, ils augmentent progressivement leur activité physique et le temps passé en mer, ce qui la rend critique concernant le développement des capacités de plongée. A terre, les juvéniles juste sevrés évoluent dans un environnement polaire, froid et venteux. De précédentes études ont montré que la quantité de temps et d'énergie allouée à la maturation physiologique dépend fortement de la condition des jeunes au sevrage (maigres ou gras), on sait encore peu de choses sur la façon dont les facteurs environnementaux influencent les pertes d'énergie et le comportement en mer pendant cette période. Pour déterminer l'effet cumulé des contraintes physiologiques et météorologiques sur l'activité des juvéniles pendant le post-sevrage, nous avons équipé six femelles éléphant de mer du sud juste sevrées avec des accéléromètres, et mesuré leur état corporel au sevrage par dilution isotopique. En utilisant une classification du comportement basée sur l'association accélérométrie/observations, nous avons identifié deux comportements en mer : de la nage active, et des événements de mises à l'eau sans nage active. Comme décrit précédemment avec un index de condition corporelle, nous avons constaté que les juvéniles passaient plus de temps à nager activement s'ils étaient en mauvaise condition corporelle au moment du sevrage. Nos résultats montrent aussi qu'ils passent plus de temps passifs en mer (sans nager) pendant les jours venteux. Nous concluons que la variabilité interindividuelle observée dans le comportement des jeunes éléphants de mer du sud en post-sevrage peut être liée à des contraintes physiologiques et météorologiques expérimentées en début de la vie. L'effet cumulé de plusieurs contraintes physiologiques, comme les réserves au sevrage, et environnementales, comme stress thermique, sur le comportement des juvéniles et le temps alloué au développement de leurs capacités de plongée, gagneraient à être étudiés plus en détail. Cela pourrait aider à mieux comprendre dans quelle mesure les conditions de début de vie des jeunes éléphants de mer du sud pourraient influencer leurs réponses comportementales et physiologiques au cours de leur premier voyage, et, à plus long terme, sur les suivants, et leur capacité de faire face à des défis similaires lors des futures périodes d'émersions.

III. Article 2 : Meteorological and physiological factors impacting juveniles' training during the preconditioning post-weaning period of an extreme diver, the southern elephant seal

Laura Charlanne*¹, Erwan Piot^{2,3}, André Ancel¹, Léa Hippauf², Jérôme Badaut^{2,4}, Baptiste Picard⁴, Alexandre Zahariev¹, Christophe Guinet⁴, Caroline Gilbert³, Audrey Bergouignan¹

¹Université de Strasbourg, CNRS, IPHC UMR 7178, 67000 Strasbourg, France

²CNRS UMR5536, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux, France.

³UMR 7179, CNRS/MNHN, Laboratoire MECADEV, 1 avenue du petit château, 91400, Brunoy, France

⁴Centre d'Études Biologiques de Chizé, UMR 7372 CNRS, Université de La Rochelle, 79360 Villiers-en-Bois, France.

*Corresponding author: laura.charlanne@iphc.cnrs.fr

In prep, Journal of Experimental Biology

A. Abstract

Adult southern elephant seals (SES) present extreme and continuous diving behavior. However, weaned SES abruptly transition from terrestrial to aquatic life after a short post-weaning period, which is critical in the development of diving abilities. Juveniles progressively increase their activity and time at sea before their first trip, remaining in a cold and windy environment. If previous studies highlighted that the amount of time and energy allowed for physiological maturation is strongly dependent on pups' condition at weaning, little is known about how environmental factors affect energy losses and at-sea behavior during this period. To determine the cumulative effect of physiological and meteorological parameters on juveniles' activity, we equipped six recently weaned female SES with accelerometers and measured their body condition at weaning by the isotopic dilution method. Using an accelerometry-based behavior classification, we identified two behaviors: active swimming and non-swimming at-sea events. We found that juveniles spent more time swimming if they were in bad body condition at weaning and spent more non-swimming time at sea during windy days. We conclude that the interindividual variability observed in juvenile SES' behavior may be related to both physiological and meteorological factors experienced early in life. The cumulative constraints of body condition and environmental variability on juvenile SES' behavior and development of diving abilities need to be further investigated. This could help to better understand to what extent early-life conditions can drive future behavioral and physiological responses and the ability to cope with similar challenges later in life during on-land periods.

B. Introduction

Diving mammals that regularly alternate long phases foraging at sea and extended ashore periods to breed and molt face many challenges. On the one hand, breath-holding foraging requires many adaptations to limit oxygen depletion and increase foraging time, and on the other hand, long periods on land in a less buffered environment than the marine one implies a significant energy expenditure as animals molt, reproduce, lactate, with reduced access to food and water (Laws 1977; Hindell et al. 1991; Le Boeuf et al. 1993; Boyd et al.

1993; Richard et al. 2014). The high energy demand of these physiological events along with the calorie restriction creates a significant energy deficit, which alters body composition. Yet, body condition in future at-sea survival is critical, which questions how these animals cope with so many constraints and maintain their fitness.

Juveniles are extremely vulnerable to this energetic imbalance. In many phocids, pups abruptly transition from terrestrial to aquatic life after a short post-weaning period when the mother leaves. In many species, the post-weaning period has been reported to be critical in the development of diving abilities and physiological maturation, such as an increase of myoglobin concentration in the muscles, stimulation of the adaptive responses to hypoxia, and an increase of the antioxidant system (Noren et al. 2005; Vázquez-Medina et al. 2011c, 2013; Somo et al. 2015). Consequently, a long post-weaning period could act as a good preconditioning and improve survival during their first foraging trip (Orgeret et al. 2019a; Cox et al. 2020). However, the post-weaning duration is strongly dependent on the amount of fat reserves. Lean individuals are forced to leave earlier despite poorer diving abilities or take the risk of leaving later with insufficient body conditions and dying during the first trip (Jouma'a et al. 2024).

Among divers, southern elephant seals (SES) are one of the most extreme. They regularly dive for up to one hour and remain on land in a polar environment for weeks twice a year to breed and molt, strictly fasting (Hindell et al. 1991; Le Boeuf et al. 1993). During these periods, SES rely on their fat reserves and lose nearly one-fourth of their body mass (Slip et al. 1992b). However, we reported that females could go to the sea and feed, allowing them to limit blubber depletion and start the next foraging trip in better condition (Charlanne et al. 2024). Pups SES face similar challenges. They spend three weeks on land in the cold after their mother's departure before embarking on their first travel at sea (Modig et al. 1997). This period ashore represents three weeks of fasting during which they lose of about 1.2kg/day, (Carlini et al. 2000) while increasing their physical activity (swimming or moving), still relying on their reserves (Modig et al. 1997; Piot et al. 2024). In addition, their body condition at the start of the first trip is crucial for their swimming performance (Orgeret et al. 2019a) and first-year survival (Cox et al. 2020). This post-weaning period is abruptly ended by the first departure at sea of the juveniles, and is characterized by a progressive improvement of diving abilities through the increase of oxygen reserves, antioxidant defenses, and muscle maturation. More precisely, their physical activity and first times at sea, performing small

apneas, appear to be determinants in the development of diving abilities (Vázquez-Medina et al. 2011c, 2013; Somo et al. 2015). However, we lack information about their at-sea activities and possible swimming training despite the fixed and unequal amount of fat reserves they have within a population (Piot et al. 2024).

While remaining on land appears to be a real challenge for SES in terms of energy balance, very little is known about how they simultaneously cope with environmental variability. When remaining on land, these animals experience a wider range of environmental conditions than in water (Walcott et al. 2020). Few studies investigated the behavior of molting seals according to environmental factors (Sato et al. 2003b; Charlanne et al. 2024), showing different responses to thermal stress. However, no study focused on how juveniles cope with both physiological and environmental challenges despite the importance of the post-weaning period in the development of diving abilities.

In this study, we aimed to investigate female SES pups' at-sea behavior, and how they respond according to their body condition and the environmental variations. We used accelerometer data to better understand their behavior. At the beginning of the post-weaning period, body composition was accurately measured by isotopic dilution. We hypothesized that juveniles show different at-sea behavior during the post-weaning period, either swimming as training for their first trip or just spending time in the water (no swimming). We further examined the relationships with weather conditions. We hypothesized that the available reserves at weaning would be determinant in the amount of time spent training and that the more they train, the more they will lose energy reserves, and speed up their departure.

C. Methods

a. Study site and animals

All scientific procedures were approved by the Ethics Committee of the French Polar Institute (no APAFiS: #32407-2021071212163407 v2). The study was conducted in 2022 during the post-weaning period, from mid-October to the beginning of November. The subjects were juvenile females living in nearby colonies of the Kerguelen Archipelago. Fieldwork took place on the site of Estacade (49°16'S, 70°32'E).

Elephant seals were captured during the post-weaning period (n=6) and anesthetized using tiletamine and zolazepam (Zoletil® 100 (McMahon et al. 2000)). They were measured with a tape, weighted to the nearest 1 kg, and injected with D₂O to measure body composition. They were also equipped with accelerometers (Axytrek®) to record their activity and GPS location.

b. Isotope dilution

A pre-weighed dose (5.67 ± 1.12 g or 0.058 ± 0.002 g/kg) of deuterium oxide (D₂O, 99.8% purity) was then administered by intravenous injection. The dose of D₂O was weighed to the nearest 0.0001 g. To avoid residual D₂O in the syringe and needle, the syringe was flushed with blood three times after the injection. The pups were left for three to four hours after injection to allow D₂O to fully equilibrate with the total water pool (Costa et al. 1986; Reilly and Fedak 1990), and then a second blood sample was collected.

c. Blood sample analysis

Each blood sample was transferred to airtight vials, centrifuged 15 minutes at 2,000 rpm, and the plasma was drawn off by pipette in another airtight vial and stored at -20 °C until further analysis. In the lab, 200 L of plasma were thawed before liquid nitrogen freezing, and the water was separated from serum by sublimation under vacuum. Distillated samples were analyzed using a mass spectrometer (DELTA V PLUS from THERMO, Bremen, Germany).

d. Body composition

Determination of total body water (TBW) was made from the dilution of D₂O measured in the blood sample after a 3h-4h equilibration. We calculated TBW, total body fat mass (FM) and total body proteins using the equation provided for gray seals as reported below (Reilly and Fedak 1990). Total body growth energy (TBGE) was calculated assuming energy densities of 39.5 kJ/g for fat and 23.5 kJ/g for protein (Reilly and Fedak 1990).

$$(1) \quad \text{TBW} = 0.382 + 0.965 * (\text{H}_2\text{O space})$$

$$(2) \quad \% \text{FM} = 105.1 - 1.47 * (\% \text{TBW})$$

$$(3) \quad \%Protein = 0.42 * (\%TBW) - 4.75$$

e. Swimming activity and at-sea events

Juveniles were equipped with accelerometers (Axytrek®). Acceleration was sampled at 25 Hz. Axytrek® also recorded the animal's GPS location every minute (when satellites were detected). Tags were glued on the head with epoxy bi-component glue (Araldite®), retrieved at recapture to download the collected data, and then deployed again on the same animal. They were retrieved before final departure to sea. Summary of equipped individuals and time of recording are reported in Table S1 (Supplementary material). We used an accelerometry-based behavior classification as described in a previous study (Piot et al. 2024). This classification is based on a previous manual scoring of pups' behavior and associated with accelerometry data. This allows to identify four major behavioral states (Swimming, Moving on land, Quiet Waking and Resting). In this study we focused on swimming activity only. To distinguish active swimming from non-swimming at-sea events, possibly related to thermal stress, we filtered swimming activity as described in Table 12. Based on our own data exploration, we considered distinct swimming events if nothing happened in 5 minutes after the last swimming movement. We hypothesized that physical training or active swimming events would be characterized by a relatively long event (> 10 minutes, based on our own observations and data exploration), with a high detected swimming frequency along the event (at least 1 "swim" detected per minute). We also expected this active swimming behavior to mainly occur early in the morning, at dawn, or late in the day, at dusk (Piot et al. 2024). On the other side, we hypothesized at-sea events as a response to thermal stress to be less active (no filter on "swim" frequency") and relatively long events (> 5min) to remove events of occasional stroke movements on land, playing, or in mud pools. We kept events with less than 1 stroke per minute. For this behavior, we expected it would include all the individuals and occur every time of the day. Finally, we collected the frequency of each event and the total duration of time spent swimming or at sea per day. Number of events were also summed per week after weaning (week 1 to 3).

Behavior	Type of event	Thresholds	Expectations
Active swimming, training, foraging	High mean number of “swim” / min	At least 1 swim per minute	Older pups (week 2 or 3 post-weaning)
	Long events	Events > 10min	Not all individuals Early in the morning or late in the day
Non-swimming at-sea event	No filter on frequency	Events > 5 min	All individuals
	Long events	< 1 swim per minute	All weeks included Every time during the day

Table 12: Filters applied to distinguish between active swimming and response to thermal stress in juvenile SES during the post-weaning period.

f. Meteorological data

Local meteorological data between October 2022 and November 2022 were retrieved from Météo-France base station archives in Port-aux-Français (Kerguelen archipelago). These data included temperature under cover (T_a , °C), relative humidity (RH, %), sunshine duration (min), and wind speed (daily mean, minimal and maximal, m/s). For sunshine duration, data were recorded per hour and summed up per day.

g. Statistical analysis

Statistical analyses were performed with R software (R version 4.3.1). Results are expressed as mean \pm standard deviation (minimum to maximum) unless otherwise specified. To investigate the reason for different at-sea behavior (active swimming versus response to thermal stress), we investigated the effect of different meteorological and physiological factors and the daily time spent swimming or at sea. The number of days after weaning was used as a proxy of age.

We used a centered-scale Principal Component Analysis (PCA) analysis to account for meteorological parameters (sunshine duration, T_a , mean wind speed, max wind speed, and

RH) and avoid correlations. The first component (PC1) accounted for 48.3% of the variation, the second component (PC2) accounted for 23.0% of the variation, and PC3 for 20.1% of the variation. PC1 was characterized by mean windspeed, max windspeed, and RH, in this order. PC2 was defined by sunshine duration and PC3 by Ta. Accordingly, we decided to keep the mean wind speed, sunshine duration, and Ta in our models.

We used mixed linear models to test the effect of previously selected meteorological parameters, body condition at weaning, and days post-weaning on daily swimming or time at sea, with the date as a random effect. We selected the best model with the backward selection method. For each model, an ANOVA type II was performed (Anova function in R library 'car').

D. Results

The monitoring duration was 344 ± 143 hours of analyzed data (between 168 and 480 hours of recording). During the monitoring period, the mean daily wind speed was 11.6 ± 2.7 m/s (2.5 to 17.8 m/s), mean daily air temperature was 5.1 ± 1.8 °C (1.9 to 8.6 °C), mean daily total sunshine duration was 353.7 ± 194.9 minutes (105 to 775 min) and mean daily relative humidity was $71.8 \pm 7.9\%$ (54 to 95%).

a. Body composition at weaning

Females started the post-weaning period with a body mass of 107.5 ± 16.2 kg. The mean mass at weaning was composed of 42.8 ± 2.5 % water, 42.2 ± 3.7 % fat, and 13.2 ± 1.1 % protein. Table 13 reports all physiological parameters.

Pups	Weaning date	Length (cm)	Mass at weaning (kg)	Total body water at weaning (%)	Fat mass at weaning (%)	Protein at weaning (%)
530	oct.-19	109	93	41.4	44.2	12.6
543	oct.-17	138	107	42.9	42.1	13.3
559	oct.-19	132	104	41.5	44.1	12.7
563	oct.-20	136	90.5	47.7	35.1	15.28
575	oct.-17	137	135.5	41.1	44.7	12.5
605	oct.-21	148	112	42.1	43.2	12.9

Table 13: Physiological parameters recorded at weaning for each pup female SES included in our study in 2022 (n=6).

b. Active swimming behavior vs non-swimming at-sea events

Out of the six instrumented pups, five performed active swimming. The mean daily duration of an event of active swimming was 43.6 ± 38.6 min (from 10 to 235 min). Out of the 94 detected events, 3 were detected during week 1, and the others during week 2 and 3. The mean duration of one non-swimming at-sea event was $13.7 \text{ min} \pm 10.3 \text{ min}$. Out of the 406 detected events, 94 occurred during week 1, 197 in week 2, and 116 in week 3. Figure 38 reports the mean number of events per pup per week, to avoid the bias triggered by the number of equipped pups each day. Most of the events were detected during dusk (17:00-20:00) and dawn (03:00-06:00), and no active swimming was detected during the day, as reported in Figure 39.

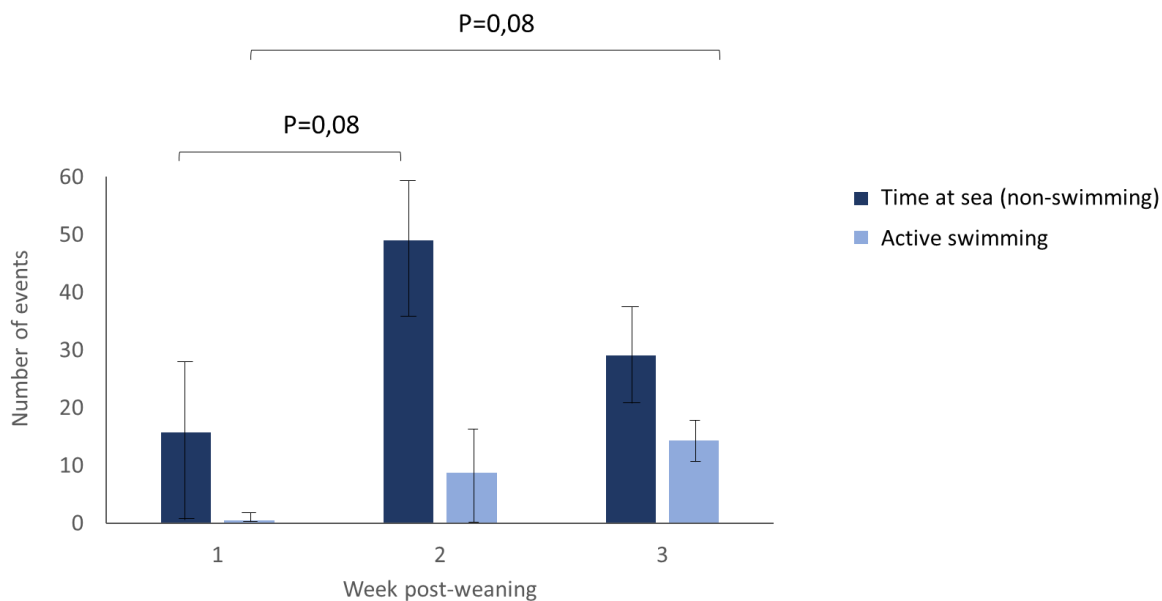


Figure 38: Repartition of juvenile SES' at-sea activities throughout the post weaning period

Repartition of the number of events per pup classified as active swimming (light blue) or non-swimming at-sea movement (dark blue) throughout the post-weaning period. Week 1, N=5, week 2 and 3, N=4.

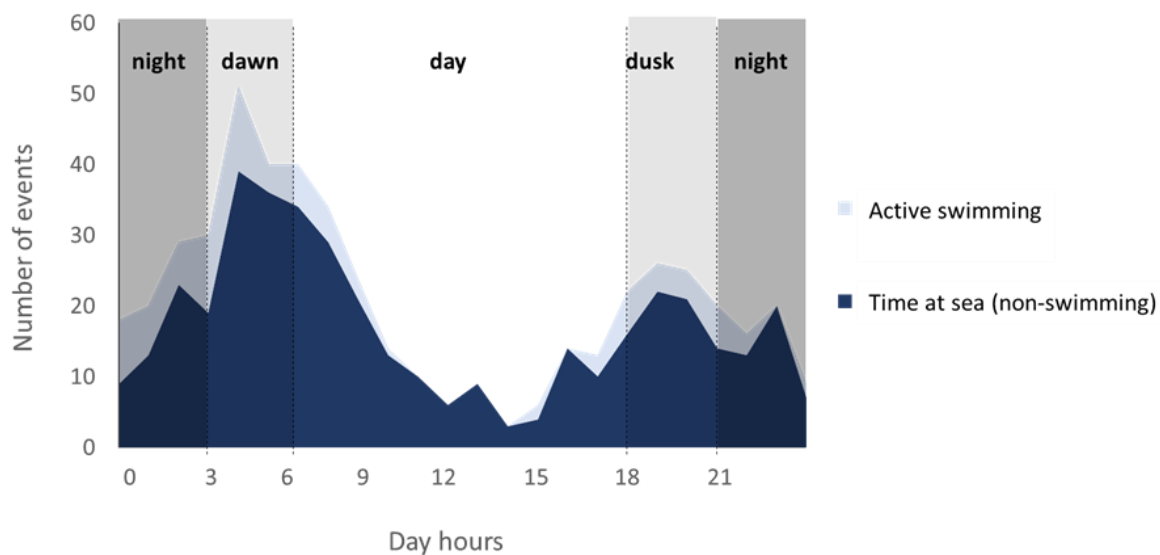


Figure 39: Daily repartition of juvenile SES' at-sea activities during the post weaning period (N=6).

Daily repartition of events classified as active swimming (light blue) or non-swimming at-sea movements (dark blue). Most of them occurred during the dawn, dusk or night. Almost no active swimming was detected during the day.

c. *Determinant of juvenile SES' behavior*

At-sea behaviors were determined by initial biological parameters. We found a positive effect of age on the amount of time spent at sea and in active swimming (Table 14). Juveniles spent more time at sea and swimming as they matured (Figures 40A, 40C). We also found a negative effect of FM at weaning on the time spent at sea, swimming and non-swimming, with a stronger effect on active swimming (Table 14, Figures 40B, 40D).

Environmental conditions also played a role in juvenile SES behavior. Only wind speed was included in the best models. Juveniles tended to go more to sea during days of high wind speed (Table 14, Figures 41A). Surprisingly, although non-significant, the opposite was found for time spent swimming (Figures 41B). Juveniles spent more time swimming during days with low wind speeds. We found no effect of size, body mass, or proteins at weaning. Out of the six instrumented juveniles, pups 575 and 559 were monitored for one week only, reducing the number of available behavioral data.

Response variable	Explanatory variables	Coefficient \pm SE	t	P
Daily time at sea (non-swimming)	Intercept	478.01 \pm 84.28	5.6	<0.001
	Fat mass at weaning	-12.24 \pm 1.88	-6.4	<0.001
	Days post-weaning	3.97 \pm 1.01	3.9	<0.001
	Wind speed	6.12 \pm 2.26	2.7	0.013
Daily time doing active swimming	Intercept	550.67 \pm 113.01	4.8	<0.001
	Fat mass at weaning	-12.19 \pm 2.53	-4.8	<0.001
	Days post-weaning	9.26 \pm 1.40	6.5	<0.001
	Wind speed	-5.76 \pm 3.18	-1.8	0.090

Table 14 : Summary of coefficients and goodness-of-fit indices from the best models for environmental and physiological conditions effect on juvenile female southern elephant seals behavior.

Linear mixed models were used with the date as a random effect and fat mass at weaning, days post-weaning and wind speed as fixed effects. Juveniles' behavior is separated as time actively swimming and non-swimming time at-sea (n=6).

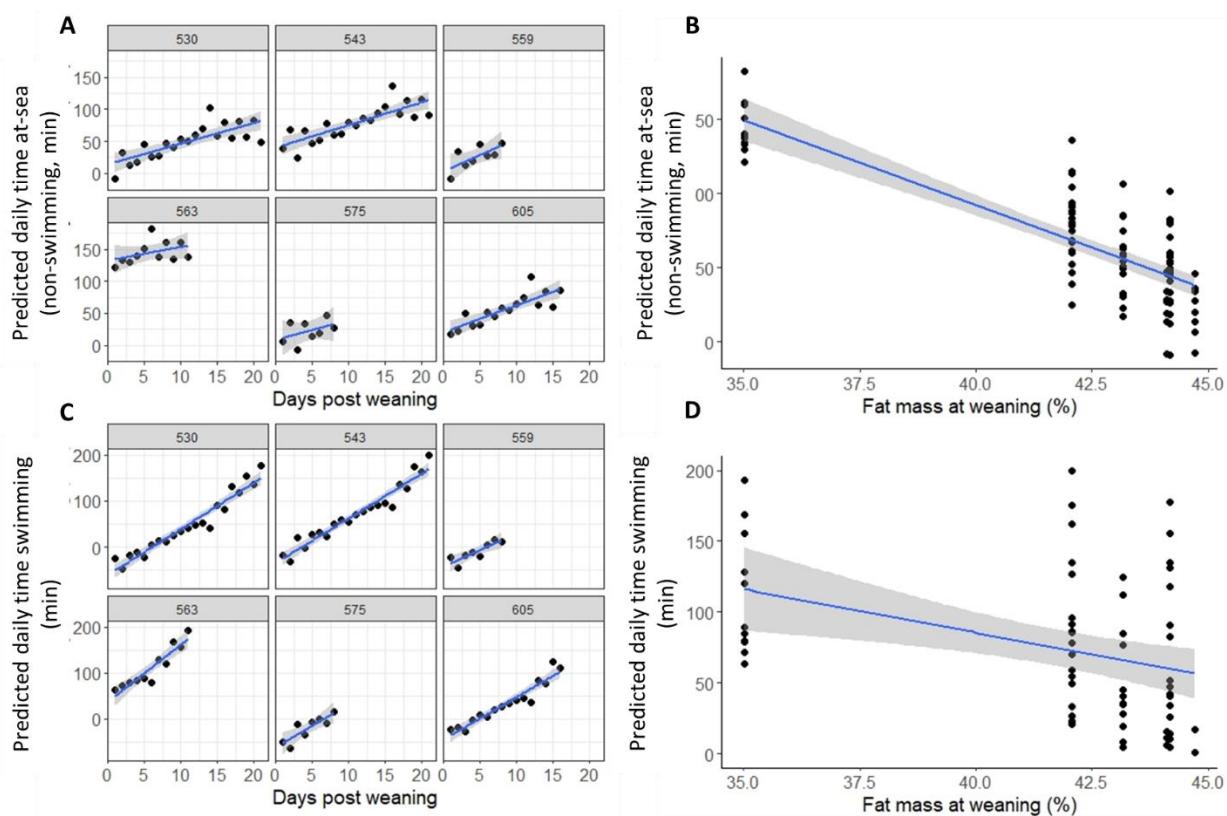


Figure 40: Relationships between physiological parameters and behavior of juvenile female southern elephant seals.

Non-swimming time (A) and time doing active swimming (C) variation with age or fat mass at weaning (B and D, respectively).

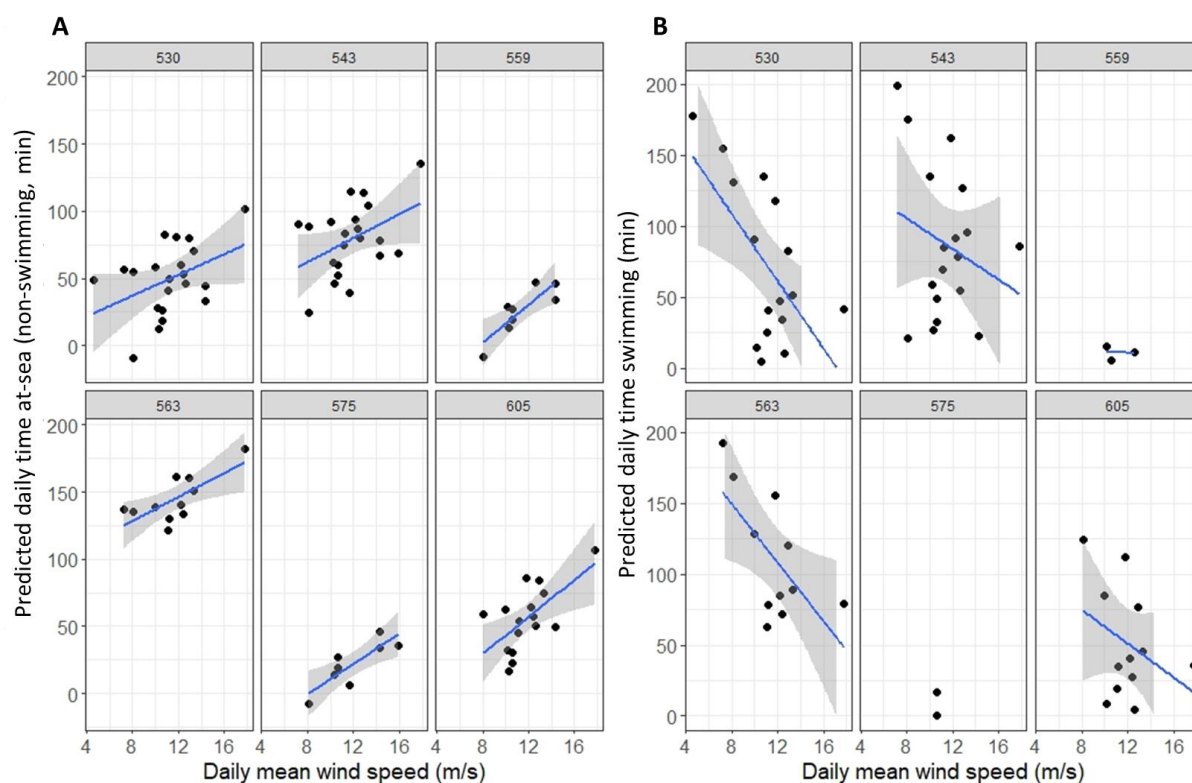


Figure 41: Relationships between meteorological conditions and behavior of juvenile female southern elephant seals.

Linear mixed model predicting daily time at sea non-swimming (A) et doing active swimming (B) related to daily mean wind speed (m/s).

E. Discussion

Remaining on-land is challenging for pinnipeds, especially as they experience physiologically costly events without energy intake in a less buffered environment (Boyd et al. 1993; Sato et al. 2003). The post-weaning period is a critical stage for weaned pinnipeds, essential for their maturation and preparation for aquatic life (Modig et al. 1997; Piot et al. 2024). However, no studies have yet considered the effect of both physiological and environmental factors on recently weaned pinnipeds' behavior, as well as the possible consequences on their physical maturation. This study investigated the effect of some meteorological conditions and physiological factors on the behavioral changes of weanlings to understand how SES cope with a high variability of factors while preparing for their first departure to sea, which is a critical life event in their cycle.

The algorithm and filters applied allowed us to discriminate two at-sea behaviors: active swimming and non-swimming at-sea events. Our results match our predictions; active swimming was detected mostly during weeks 2 and 3 (Figure 38), and very few were detected for two individuals (559 and 575) that were monitored for less time than the others. In contrast, calm at-sea behavior was detected for all pups, at every moment of the post-weaning period.

In our models, the amount of time spent in water significantly increased with the number of days after weaning (Figure 40), regardless of the type of at-sea behavior, i.e. passive movements versus active swimming. Nevertheless, the effect of age was stronger on active swimming rather than calm at-sea movements (Table 14), suggesting that training is mainly impacted by age and the proximity of the first departure, and that calm at-sea movements may also be influenced by other factors. The increase of global physical activity (distance covered per day) with age was already reported in recently weaned elephant seals (Modig et al. 1997; Thorson and Le Boeuf 2023; Piot et al. 2024) but this study is the first one to phenotype different at-sea behaviors. Consequently, we could expect an increase in at-sea events per week post-weaning. The increase was noticed regarding active swimming behavior, although non-significant, probably due to our small sample size. However, no clear pattern was observed regarding non-swimming at-sea events.

The deuterium-labeled water method allowed us to characterize body composition at weaning. Our values were similar to what was previously reported in other SES populations (Hindell et al. 1994; Carlini et al. 2000, 2001). We noted a high inter-individual variability (35.1 % to 44.7 % of fat). The amount of fat at weaning strongly depends on the mother and lactation duration, and determines the time juvenile can spend on-land before leaving for their first foraging trip. In phocids, a long post-weaning period is important to stimulate physiological adaptations to diving, such as antioxidant defenses, response to hypoxia, and physical activity (Noren et al. 2005; Vázquez-Medina et al. 2011c, 2013; Piot et al. 2024). Consequently, juveniles with insufficient fat reserves must choose between a short time on land with higher energy storage but poorer physiological abilities or a long time on land and improved abilities but poorer body condition. In both cases, leaner juveniles would suffer from disadvantages; either in body condition or swimming abilities, depending on the time allowed to on-land maturation, with possible fitness consequences (Jouma'a et al. 2024). However, in our study, leaner juveniles seem to compensate for the short time allowed on land by

increasing their at-sea activities, both active swimming and calm at-sea movements (Figure 40). As an increase in physical activity and short-term exposure to apnea stimulate the adaptive response to hypoxia and oxidative stress, a possible strategy could be to maximize their training and physiological maturation before they are forced to leave. Using body mass index as a proxy of pups' condition, we previously divided our population into two groups, lean versus corpulent animals (Piot et al. 2024). This study gives further insight by showing a regression between objectively measured body composition and time spent at sea, swimming and possibly training.

The amount of time spent at sea, and especially daily time spent in active swimming, is impacted by some physiological factors such as age and body condition at weaning. This suggests a need for maximizing physical and at-sea training before the first departure to sea. It further highlights how plastic behavioral response helps juveniles to cope with reduced fat reserves and time on land and possibly reduce later life consequences during their trip, i.e. future swimming effort, foraging success and survival.

Being on-land in a less buffered environment is a challenge for pinnipeds. The effect of meteorological factors on the behavior, habitat preference, and time hauling out has already been reported in different species, such as Weddell seals (Sato et al. 2003) and adult SES during the molt (Sato et al. 2003a; Chaise et al. 2018, 2019). In both cases, animals were going to the water, diving, or doing surface swimming, probably to minimize metabolic costs (thermogenesis) or heat dissipation (thermolysis) in response to thermal stress (e.g., bad conditions or overheating). During the post-weaning period, SES pups rely on their thick subcutaneous blubber for both thermal insulation and energetic reserves. Consequently, higher energetic costs allow for thermoregulation and increase the depletion of energy reserves in blubber (Guinet et al. 1998; Crocker et al. 2001), with direct consequences on the time allowed on-land, physiological maturation, and future fitness consequences. As expected, we found an effect of meteorological factors on calm at-sea behavior, a possible response behavior to thermal stress. Indeed, our pups spent more time at sea, not doing active swimming, the days with high wind speed (Table 14, Fig 41). Unexpectedly, the opposite was observed in adult molting female SES that appeared to go to the sea to avoid heat stress (Charlanne et al. 2024). However, weather conditions in Kerguelen strongly differ during the molt (summer) and the reproduction (end of winter). Daily wind speed is nearly equal

between summer and winter (8.8 ± 2.7 m/s and 11.6 ± 2.7 m/s, respectively (Charlanne et al. 2024). However, ambient temperature differs (5.1 ± 1.8 °C in winter in this study, versus 8.4 ± 2.4 °C during summer). This is consistent with possible heat stress during summer and cold stress during winter. Also, young individuals that are not acclimatized yet to cold environment struggle to maintain homeothermy, which might be costlier than in acclimatized individuals or adults (Barré and Roussel 1986; Roussel et al. 2020). Consequently, SES pups may be more vulnerable to cold stress than adults and may rely on short and low-active at-sea movements to escape from cold and windy conditions. Surprisingly, although non-significant, we noticed the opposite tendency for active swimming behavior (Table 14, Figure 41B). Our juveniles seemed to do more active swimming during the days with low windspeed. Limiting movements during the post-weaning period appears to be advantageous in grey seals and elephant seals to conserve energy reserves (Noren et al. 2008; Piot et al. 2024). High wind speed usually triggers surface water movements making juveniles drift while swimming (Lenglart and Bester 1982). As active swimming against the current is energetically costlier than calm at-sea movements, waiting for low wind speed, and so a weaker swell, and a less strong current could be an advantage to limit energy expenditure while training.

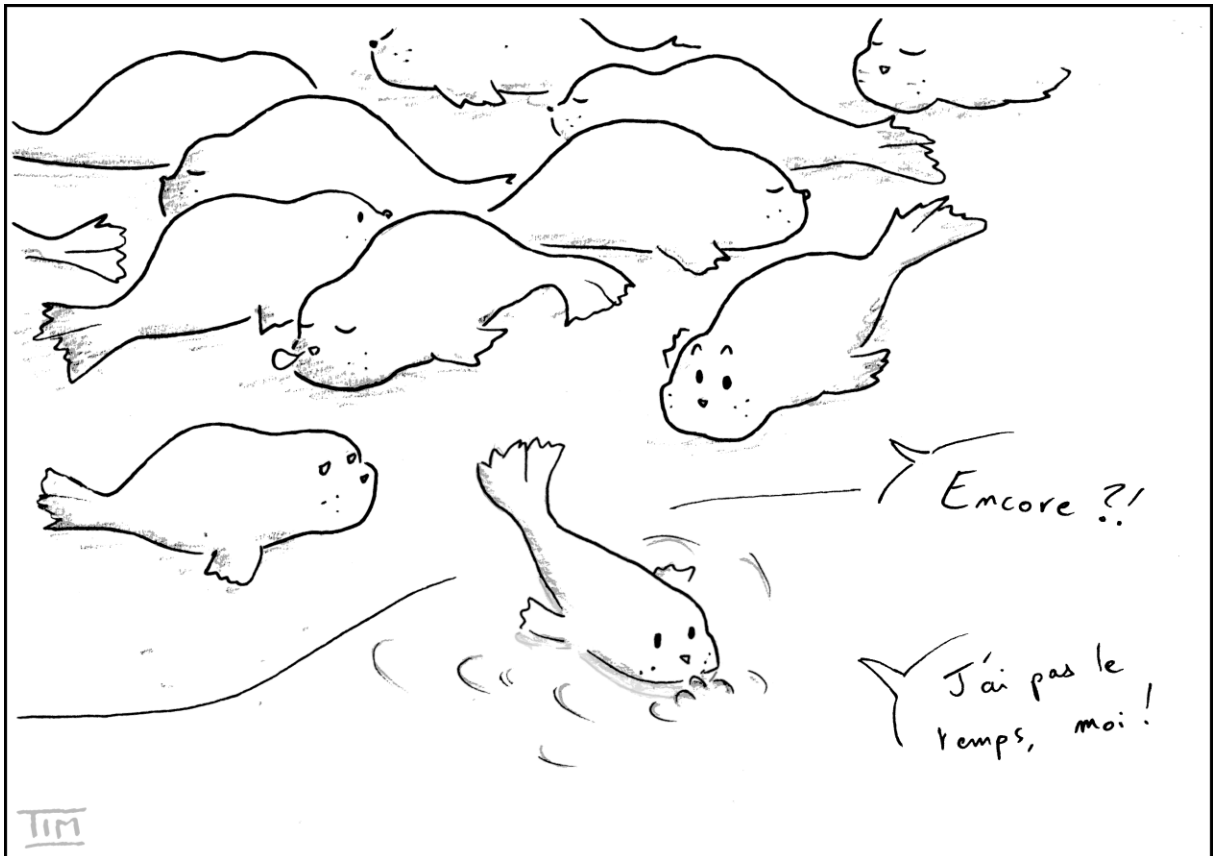
As previously reported in this species and in other phocids, our results show that at-sea activity peaks at dusk and dawn (Figure 39). Previous studies mentioned a reduction of predation risk at that time of the day, or an internal cycle, as adults tend to forage more efficiently at dawn or dusk during nycthemeral migration of their prey (Reiter et al. 1978a; Arnbom et al. 1993a; Falabella and Campagna 1999; Jørgensen et al. 2001; Piot et al. 2024). Also, when juveniles leave for their first trip, they are reported to disperse from their birth site from dusk to dawn (Lenglart and Bester 1982). In that line, we did not report any active swimming during the day, which is consistent with a possible preconditioning to foraging rhythm or dispersal. In addition, a few calm at-sea movements were reported during the day, but the majority also occurred at dusk and dawn. This highlights the complexity of the combination of many factors in driving juveniles' behavior during the post-weaning period. Moreover, considering how the development of diving abilities and body condition influence future survival as life history traits, this points out the need for more longitudinal studies to investigate the long-term effect of early physiological and environmental conditions on SESs' ability to face equivalent challenges later in life.

F. Conclusion

This study found that pups female SES showed different at-sea behaviors during the post-weaning period, performing active swimming or calm at-sea movements and the inter-individual variability observed in these behaviors may be related to both physiological and meteorological factors experienced early in life. While environmental factors responsible for thermal stress were determinants of calm at-sea behavior, the effect of body condition on active swimming and training and subsequent potential fitness consequences need to be further investigated. This could help to better understand to what extent early-life conditions can drive future behavioral and physiological responses and the ability to cope with similar challenges later in life during on-land periods. Considering the increase of extreme events occurring in polar climates and possible fitness consequences, the effect of bad weather conditions on juveniles' training and development of diving abilities is of particular interest.

G. Acknowledgements and funding

The present research project was supported by the Institut Polaire Français Paul-Emile Victor (IPEV programs 1037 and 1201). We thank the Terres Australes et Antarctiques Françaises for logistic support, and the fieldwork volunteers who helped in tags deployments and retrievals (in alphabetic order; Jérôme Badaut, Antoine Bertault, Laura Charlanne, Christophe Guinet, Lea Hippauf, Erwan Piot, Nathan Thenon). The overall study was funded by the Institut Polaire Français Paul-Emile Victor (IPEV Program 1201 Cycleleph) and doctoral fellowships of French Ministry of Higher Education and Research.



CHAPITRE 3 :
ONTOGENÈSE DES ADAPTATIONS PHYSIOLOGIQUES
AUX PLONGÉES EXTRÊMES ET CONDITIONNEMENT
CHEZ LES JUVÉNILES EN POST-SEVRAGE



I. Introduction

Dans le Chapitre 2, nous mettons en évidence l'importance de la phase de post-sevrage dans la préparation physique avant le premier voyage en mer des juvéniles. Si de nombreuses contraintes (physiologiques, météorologiques) semblent jouer sur leur comportement à terre et déplacements en mer, la finalité semble bien être de maximiser l'entraînement et leur stimulation physiologique avant le grand départ. Cependant, que se passe-t-il à l'échelle cellulaire au cours de cette période ? En quoi l'activité physique, mais aussi les différents stress subits (le jeûne, les premières apnées...) contribuent-ils à la mise en place des voies de réponse cellulaire à l'hypoxie, en prévention des plongées à venir ? En d'autres termes, en quoi cette période de post-sevrage et les contraintes auxquelles les juvéniles font face pourraient-elle constituer un pré-conditionnement pour un futur mode de vie aquatique ?

II. Résumé en français de l'Article 3

La recherche alimentaire en apnée implique d'optimiser au maximum sa consommation d'oxygène pour maximiser le temps de chasse en profondeur. Optimiser la consommation d'oxygène passe par différents ajustements physiologiques, notamment à l'échelle musculaire, tissu le plus consommateur, et particulièrement sollicités lors de la nage. Dans les cellules musculaires, la consommation d'oxygène est régulée par les mitochondries, organites qui produisent l'ATP, mais aussi des espèces réactives à l'oxygène (ROS). Lorsque les ROS sont produits en trop grande quantité, leurs interactions avec les éléments cellulaires sont à l'origine de dommages oxydatifs, ou stress oxydant, pouvant aller jusqu'à la mort cellulaire. Les éléphants de mer du sud passent des mois à se nourrir en mer, plongeant en profondeur, parfois jusqu'à une heure à deux heures. Si les adultes réalisent régulièrement ces plongées, les juvéniles passent brusquement d'un mode de vie terrestre à un mode de vie aquatique après une période post-sevrage, au cours de laquelle ils jeûnent et augmentent progressivement leur activité physique. Cette période est donc décisive concernant la mise en place de la réponse adaptative à la restriction de l'oxygène et au stress oxydant. Dans cette étude, nous avons comparé la capacité fonctionnelle d'un muscle de nage chez des éléphants de mer du sud femelles tout juste sevrés et des adultes, stades qui diffèrent notamment par

leur exposition régulière à l'hypoxie. Nous avons utilisé la respirométrie haute résolution pour étudier la capacité respiratoire des mitochondries musculaires, et, sur le même fragment de muscle, nous avons évalué les différences dans l'expression des protéines et des gènes en utilisant les techniques de spectrométrie de masse (LC-MS/MS) et RT-PCR. L'oxydation des lipides et des protéines a également été mesurée dans le plasma des animaux. Nous avons mis en évidence une plus grande efficacité de couplage mitochondrial chez les juvéniles, probablement en réponse à une activité physique plus élevée que celle des femelles adultes en lactation. Il n'y avait pas de différences dans les dommages oxydatifs entre les deux groupes, mais les adultes avaient un niveau plus élevé de défenses antioxydantes. Les voies de réponse à l'hypoxie et au stress oxydant semblent moins actives chez les juvéniles que chez les adultes. Cette étude met alors en évidence l'effet de l'exposition régulière à la restriction d'oxygène dans le déclenchement de la réponse adaptative à l'hypoxie et au stress oxydatif, mais également comment les contraintes lors des périodes d'émersion contribuent aux réponses immédiates et long terme aux différents stress physiologiques expérimentés par ces animaux.

III. Article 3 : Ready to dive? Early preconditioning to aquatic life in an air-breathing mammal, the southern elephant seal *Mirounga leonina*

Laura Charlanne¹, Fabrice Bertile^{1,2}, Alexandre Geffroy^{1,2}, Lea Hippauf³, Isabelle Chery¹, Sandrine Zahn¹, Christophe Guinet⁴, Erwan Piot^{3,5}, Jérôme Badaut³, André Ancel¹, Caroline Gilbert^{5,6}, Audrey Bergouignan¹.

¹ Université de Strasbourg, CNRS, IPHC UMR 7178, 67000 Strasbourg, France

² Proteomics French Infrastructure, FR2048, ProFI, Strasbourg 67000, France;

³ CNRS UMR 5536, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux, France

⁴ Centre d'Études Biologiques de Chizé, UMR 7372 CNRS/Université de La Rochelle, 79360 Villiers-en-Bois, France.

⁵ UMR 7179, CNRS/MNHN, Laboratoire MECADEV, 1 avenue du petit château, 91400, Brunoy, France

⁶ Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France

*Corresponding author: laura.charlanne@iphc.cnrs.fr

Article en révision dans Journal of Experimental Biology

A. Abstract

Breath-holding foraging implies different adaptations to limit oxygen (O₂) depletion and maximize foraging time. Physiological adjustments can be mediated through O₂ consumption, driven by muscle mitochondria, which also produce reactive oxygen species. Southern elephant seals spend months foraging at sea, diving for up to one hour. Pups transition abruptly to aquatic life after a post-weaning period, during which they fast and progressively increase their activity, making this period critical for the development of adaptive response to oxygen restriction and oxidative stress. We investigated the functional capacity of a swimming muscle in recently weaned and adult female southern elephant seals. High-resolution respirometry was employed to examine muscle respiratory capacity, and we assessed differences in protein and gene expressions using LC-MS/MS and RT-PCR. Lipid and protein oxidation were measured in the plasma. We found higher mitochondrial coupling efficiency in juveniles, probably in response to higher activity. There were no differences in oxidative damage, but the adults had a higher level of antioxidant defenses. Both hypoxia and oxidative response pathways appeared less activated in juveniles. This study highlights the effect of regular exposure to O₂ restriction in triggering the adaptive response to hypoxia and oxidative stress, but also how on-land constraints contribute to immediate and long-term responses to physiological stresses.

Keywords:

Diving mammal – Physiological stress – Oxygen restriction – skeletal muscle adaptations – *Mirounga leonina*

B. Introduction

Diving mammals are regularly exposed to oxygen (O₂) restriction throughout their lives, performing prolonged foraging dives in apneic conditions (Ridgway et al. 1975; Elsner and Gooden 1983; Kooyman 2012). Breath-holding foraging implies increased physical activity despite the decline in O₂ availability. This should require physiological adjustments for optimal O₂ consumption, including a reduction in cardiac output or blood flow redistribution toward obligatory oxygen-dependent tissues (Castellini et al. 1994; Andrews et al. 1997; Kooyman and

Ponganis 1998; Elsner 1999; Stockard et al. 2007). Local physiological adaptations, such as an increase in skeletal muscle mass and oxidative capacity, should also mediate physical demand adjustments. Mitochondria, the functional organelle responsible for oxidative phosphorylation and ATP production, especially those located in skeletal muscle, mainly drive local O₂ consumption (van den Berg et al. 2011). This production of ATP by the mitochondrial respiratory chain is usually accompanied by the generation of reactive oxygen species (ROS), which increases with a high proton motive force (Korshunov et al. 1997; Barja 2007). High levels of ROS production can overwhelm antioxidant defenses and trigger protein oxidative damage, lipid peroxidation, and DNA modifications, thus possibly compromising muscle function. ROS production and resulting biochemical damage increase with age, along with antioxidant enzyme loss of function, but can also increase in response to massive blood reoxygenation, for instance, during ischemia-reperfusion or air-breathing after apnea (Starke-Reed and Oliver 1989; Fraga et al. 1990; Sohal et al. 1993; Barja 2002; Sorensen et al. 2006). This raises the question of how diving mammals, depending on their age, cope with the alternation of low O₂ availability during apneas and reoxygenation after apneas in relation to age.

Many studies have focused on physiological adaptations to low oxygen availability or oxidative stress in diving mammals. Previous studies on seals reported massive oxygen stores (94 ml O₂ kg⁻¹, i.e. 4 times more than humans) with 28% in the muscles and many adaptations to minimize oxygen depletion and maximize foraging time (Davis 2014; Blix 2018). Also, seals show mechanisms to avoid oxidative damage in plasma, tissues, and red blood cells. For instance, they are known to possess higher glutathione (GSH) levels than terrestrial mammals and, consequently, exhibit lower levels of oxidative damage in their tissues (Murphy and Hochachka 1981; Wilhelm Filho et al. 2002; Zenteno-Savín et al. 2002; Vázquez-Medina et al. 2006, 2007; Wright et al. 2020). Muscle mitochondrial adaptations were also investigated in extreme divers such as the northern elephant seal (NES, *Mirounga angustirostris*). A progressive adaptation to long breath-hold exercises was shown as animals matured from pups to adults, characterized by an increased efficiency in coupling phosphorylation and ATP production (Chicco et al. 2014). The molecular pathways responsible for adaptations to low oxygen availability and oxidative stress are also well-identified. Low partial oxygen pressure is known to trigger the hypoxia adaptive response, mediated by HIF-1 α , a transcription factor that activates different genes involved in angiogenesis, erythropoiesis, and myoglobin

production, helping in optimizing oxygen stores, redistribution, and consumption. The response to oxidative stress is controlled by Nrf2, another transcription factor responsible for the activation of several antioxidant enzymes. Both HIF-1 α and Nrf2 have been implicated in the seal's protection against apnea-induced hypoxemia and ischemia/reperfusion (Johnson et al. 2004, 2005; Vázquez-Medina et al. 2011c). For instance, HIF-1 α and Nrf2 levels increased after a voluntary submersion in NES (Vázquez-Medina et al. 2011c) or Weddell seals (Murphy and Hochachka 1981). However, the link between these different pathways and how they impact the ontogenesis of physiological adaptations to aquatic life in air-breathing mammals remains unknown.

Southern elephant seals (SES, *Mirounga leonina*) are extreme divers who spend months in the sea to feed, diving for up to one hour without surfacing to breathe, reaching depths of up to 1,000 m (Hindell et al. 1991). General physiological adjustments are already described in NES, another extreme diver (Meir et al. 2009; Davis 2014), as well as muscular adaptations to both low O₂ availability and oxidative stress (Vázquez-Medina et al. 2011c; Chicco et al. 2014). However, little is known about SES, which performs extreme dives as NES but in a polar environment. Moreover, few studies have investigated both mitochondrial performance and adaptive muscular and systemic responses to oxidative stress in conjunction with regular exposure to low O₂ partial pressure. While adult SES are regularly exposed to O₂ restriction, pups must abruptly transition to aquatic life after a short post-weaning period before leaving for their first trip to sea. This period is particularly stressful for the juveniles, as during several weeks, they progressively increase their physical activity and at-sea movements while fasting (Wilkinson and Bester 1990; Noren et al. 2008). This post-weaning period is common to many phocid species and critical to the development of their diving ability and adaptive response to low O₂ availability and oxidative stress (Noren et al. 2005; Prewitt et al. 2010; Vázquez-Medina et al. 2011a; Somo et al. 2015; Thorson and Le Boeuf 2023). The combination of stressful events during the post-weaning period, the abrupt transition, and the ability of juvenile SES to perform extreme dives make them good model species for studying this post-weaning period as preconditioning, and the ontogenesis of physiological adaptations to O₂ restriction and oxidative stress.

The aim of this study was to investigate the ontogenesis of the muscular and systemic adaptive responses of SES to O₂ restriction and oxidative stress in a cold environment and how different physiological stresses experienced early in life could act as a preconditioning for future

challenges. Metabolic and functional capacity of skeletal muscle were investigated in recently weaned SES females and adult females. High-resolution respirometry was employed to examine differences in muscle respiratory capacity between the two groups. We assessed protein and gene expression differences on the same tissue using LC-MS/MS and RT-PCR, respectively. Oxidative stress was measured in their plasma by quantifying lipid peroxidation (isoprostanes, 8-isoPGF_{2a}) and protein oxidation (protein carbonyls, PC). We hypothesized that adults would show greater mitochondrial efficiency and higher oxidative damages than juveniles that had not yet been regularly exposed to O₂ restriction and oxidative stress. We further assumed that the adaptive response to hypoxia and oxidative stress would increase in adults. As juveniles remain very active while fasting during this period, we thought they would show an upregulation of mitochondrial biogenesis and metabolic pathways to meet the bioenergetic disequilibrium before their first trip, which could contribute to increasing their adaptive response to physiological stresses they will face later in life.

C. Methods

a. Data collection and analysis

i. Animal Sampling

All scientific procedures were approved by the Ethics Committee of the French Polar Institute and the French Ethics Committee (Cometh #32407-2021071212163407 v2). The study was conducted in 2022, from late October to mid-November, in Port-Aux-Français (49°34'S, 70°21'E) in the Kerguelen Archipelago. Lactating adult females at the end of the weaning period to avoid disturbance (N = 6) and juvenile females of approximately 5–6 weeks old during the post-weaning period (N = 5) were sampled. All individuals remained on land fasting for 2 (juveniles) to 3 weeks (adults). Females were lactating and strictly remained on land. Juveniles were on the beach with the opportunity to play and swim in the sea. Animals were anesthetized with an initial dose of tiletamine and zolazepam (Zoletil® 100) via intramuscular injection. They were measured and weighted, and skeletal muscle biopsy and blood samples were collected, as described below.

ii. Muscle biopsy and blood sampling

We performed a surgical biopsy of a swimming muscle (*longissimus dorsi*). During the surgical procedure, anesthesia was maintained by successive injections of tiletamine and zolazepam (Zoletil® 100) into the extradural vein every five to ten minutes. The biopsy area was sterilized using iodinated povidone 7.5% surgical scrub and iodinated povidone 10% solution (Vétédine®). Subsequent subcutaneous administration of local anesthesia (1% lurocaïne®) was made before making a small incision. Non-traumatic Mayo scissors were used to break adipose tissue until it reached the muscle layer. An 8-mm biopsy cannula was introduced, and two muscle samples of approximately 30 mg each were taken. One was placed into ice-cold BIOPS buffer (pH 7.1) containing 10 mM Ca²⁺-EGTA, 0.1 μM free calcium, 20 mM taurine, 50 mM K-MES, 0.5 mM DTT, 6.56 mM MgCl₂, 5.77 mM ATP, and 15 mM phosphocreatine until processing for mitochondrial respiration experiments within the following hour; the other was placed into RNAlater® and frozen at -20°C for later analysis. A simple interrupted cutaneous suture with PDS® II D3T monofilament absorbable (2-0, 3/8, 24 mm; Ethicon) was made to stitch the incision. The wound was cleaned with iodinated povidone 10% solution (Vétédine®) and protected with an aluminum healing spray (Alumisol®). Postoperatively, the animals received an intramuscular (IM) injection of both antibiotics (Penicillin, Streptomycin, Shotapen®, 13 mg/kg, and 16 mg/kg, respectively, without exceeding 12 mL per injection) and a non-steroidal anti-inflammatory drug (Meloxicam, Metacam®, 0.5 mg/kg). The whole capture and surgical procedure lasted less than one hour. After the biopsy, animals were monitored until complete voluntary locomotion was regained.

Blood samples were collected directly in the extradural vein in EDTA tubes after intramuscular anesthesia. The tubes were centrifuged for 5 min at 4,000 rpm, and the plasma was pipetted into an airtight vial and stored at -20°C until shipping and then at -80°C.

b. High-resolution respirometry

i. Tissue preparation

Muscle fiber bundles were selected from biopsies maintained in ice-cold BIOPS and mechanically separated in a petri dish on ice. Adipose and connective tissue were removed using fine forceps under a dissecting microscope. Teased fiber bundles (2–4 mg) were

transferred to BIOPS containing $50 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ saponin for 30 min of membrane permeabilization and washing of intracellular substrates (Gnaiger, 2009). Permeabilized muscle fibers were washed in ice-cold MiR05 respiration buffer containing 0.5 mM EGTA, 3 mM MgCl_2 , 60 mM lactobionic acid, 20 mM taurine, 10 mM KH_2PO_4 , 20 mM HEPES, 110 mM sucrose, and 1 g/l fatty acid free-BSA and gently rocked for 10 min to wash out residual saponin. Permeabilized fibers were blotted on Whatman filter paper to remove excess buffer, weighed, and immediately placed in the oxygraph chambers containing MiR05 at 37°C for stabilization before the respiration experiments described below.

ii. Respirometry

High-resolution tissue respirometry was performed on permeabilized muscle fibers obtained from the *longissimus dorsi* using an Oxygraph-2K (O2K) respirometer (Oroboros Instruments, Innsbruck, Austria). All respirometry data were collected at 37°C . Before each protocol, the oxygen electrode for each chamber was calibrated using ambient air. Permeabilized muscle fibers were introduced into the chamber before partially sealing the chamber with a stopper. As respiration was low and because of field constraints, we decided not to add oxygen before starting the measurements. Two protocols were performed for each sample (Table 15). Cytochrome C was used to assess mitochondrial membrane integrity. An increase in respiratory flux of more than 10% following ADP titration is usually used as a threshold to indicate that compromised outer mitochondrial membranes invalidated the respirometry measures for a given sample. One measurement had a ratio between the respiratory flux after adding cytochrome c and ADP of 14% and another of 21%. Because all the experiments were run by the same person, under the same conditions, and the respiration values were good, we decided to keep both experiments in the final analysis.

Protocol components (in order of titration)	Respiratory state
A Palmitoyl-carnitine (0.04 mM) + malate (0.1 M)	LEAK; uncoupled respiration in the presence of long and
Octanoyl-carnitine (0.2 mM)	short chain fatty acid concentration
ADP (5 mM)	OXPHOS FA; Fatty acid stimulated respiration
Cytochrome c (0.01 mM)	CytC; Test of outer mitochondrial membrane integrity
Malate (5 mM) + Pyruvate (5 mM) + Glutamate (10 mM) + Succinate (10 mM)	OXPHOS CI+CII ; Complex I+II coupled respiration
Carbonylcyanide <i>p</i> -trifluoromethoxy-phenylhydrazone (FCCP, 0.001 mM)	MAX CI+CII; Maximal uncoupled Complex I and II capacity
Rotenone (0.005 mM)	MAX CII; Maximum uncoupled Complex II capacity
Malonate (5 mM) + Antimycine (0.0025 mM)	RESIDUAL; Residual oxygen concentration
B Pyruvate (5mM) + Malate (5 mM)	LEAK; Complex I uncoupled respiration
Glutamate (10 mM)	
ADP (5 mM)	OXPHOS CI; Complex I coupled respiration
Cytochrome c (0.01 mM)	CytC; Test of outer mitochondrial membrane integrity
Succinate (10 mM)	OXPHOS CI+CII ; Complex I+II coupled respiration
Carbonylcyanide <i>p</i> -trifluoromethoxy-phenylhydrazone (FCCP, 0.001 mM)	MAX CI+CII; Maximal uncoupled Complex I and II capacity
Rotenone (0.005 mM)	MAX CII; Maximum uncoupled Complex II capacity
Malonate (5 mM) + Antimycine (0.0025 mM)	RESIDUAL; Residual oxygen concentration

Table 15: High-resolution respirometry protocols (A and B) and associated respiratory states for muscle fiber mitochondrial respiration experiments.

We assessed SES *longissimus dorsi* skeletal muscle oxygen consumption *ex vivo* in primary respiratory states, including measurement of LEAK respiration, OXPHOS, and MAX respiratory flux through respiratory complexes I and II (CI+CII). Uncoupled MAX respiration reflects the maximum mitochondrial respiratory flux (Votion et al., 2012). OXPHOS respiratory capacity represents the portion of MAX capacity composed of both the respiratory flux coupled to mitochondrial oxidative phosphorylation through ATP synthase and non-coupled LEAK respiration. Steady-state respiratory values were corrected for baseline respiratory chamber oxygen flux determined at the beginning of each protocol. Oxygen flux was monitored in real-time following standardized instrumental and chemical background calibrations using Datlab software 7.4.0.4 (Oroboros Instruments).

c. Protein and RNA extraction

Muscle tissues were processed to extract protein and RNA simultaneously (Khudyakov et al. 2022). Muscle tissue (~30 mg) was isolated from RNA later while frozen and crushed. The tissue was processed using 1 ml of Trizol. RNA and proteins were separated through a chloroform-phase extraction. Proteins were precipitated from the organic phase using isopropanol, and pellets were washed with 0.3 mol/l guanidine hydrochloride in 95% ethanol and stored at -80°C until further processing. RNA was cleaned using RNeasy Mini Kit (Qiagen®). The amount and purity of RNA were measured with a Nanodrop and RNA stored at -80°C until further analysis.

*d. Protein levels – quantitative mass spectrometry-based analysis**i. Muscle proteome analysis using DIA-based nanoLC-MS/MS*

Detailed methods are provided in the Supplemental Materials (Supplementary Methods). From the protein extracts of elephant seal muscles, a reference sample comprising an equal protein quantity of all protein extracts was made for quality assessment of LC-MS/MS. Individual samples and the reference sample were electrophoresed using SDS-PAGE gels. A stacked protein band, as well as the part of the gel above this band, were excised from the gel, and proteins were in-gel reduced, alkylated and then digested at 37°C overnight with trypsin (Promega). A set of reference peptides (Indexed Retention Time [iRT] Kit, Biognosys AG) was added to the resulting peptides to allow the stability of instrument performance to be measured for QC purposes. Samples were analyzed on a nano-ultraperformance LC system (nanoElute 1) coupled to a hybrid trapped ion mobility spectrometry – quadrupole time of flight mass spectrometer (TimsTOF Pro 2) (Bruker Daltonics). The TimsTOF Pro 2 mass spectrometer was operated in data-dependent acquisition (DDA)-parallel accumulation-serial fragmentation (PASEF) mode (Meier et al. 2018) or repeated injections of the reference sample, allowing the stability of the system to be assessed throughout the experiment and to optimize the method used in data-independent acquisition PASEF (diaPASEF) mode (Meier et al. 2020) for differential analysis of the muscle proteome between adult and juvenile individuals. Mass spectrometry data acquired in DDA-PASEF mode were processed using Maxquant v2.4.7.03 (Tyanova et al. 2016), whereas those acquired in diaPASEF mode were

processed using directDIA implemented in Spectronaut v18 (Lou et al. 2023). The protein database that we used was obtained from the latest annotation of the *Mirounga leonina* (TaxID 9715) genome in Refseq (Refseq Assembly accession GCF_011800145.1; Assembly Name KU_Mleo_1.0). For DDA-PASEF data, the false discovery rate (FDR) was set to 1% for both peptide and protein spectrum matches. For diaPASEF data, identification was performed using a mutated method for decoy generation with a dynamic limit strategy, and the precursor Qvalue cutoff was set to 1% and the protein Qvalue cutoff to 1% (experiment and run).

Regarding the quantification of DDA-PASEF data, normalization and protein abundance estimation were performed using the label-free quantification (LFQ) option offered in MaxQuant (Cox et al. 2014). Quantification of diaPASEF data was performed using Spectronaut (Lou et al. 2023), using only protein group-specific peptides. The raw files from the analysis in DDA-PASEF mode of the repeated injections of the reference sample were specified to create a hybrid library and analyse accurately diaPASEF data, for which only the proteins quantified in at least four individuals per group were retained. The mass spectrometry proteomics data have been deposited to the ProteomeXchange Consortium (<http://proteomecentral.proteomexchange.org>) via the PRIDE partner repository (Perez-Riverol et al. 2022) with the dataset identifier PXD048683.

Data indicated a good reproducibility of quantitative measurements in DDA-PASEF, with a mean CV of 19% for all LFQ values determined from the repeated analysis of this reference sample. QC-related measurements also showed that HPLC performance remained good and stable throughout the whole experiment, with a median coefficient of variation of 0.67% concerning retention times of all iRT peptides when considering all injections.

ii. Functional enrichment and pathway analysis

Hierarchical clustering of proteomics data was performed using Cluster V3.0 software (de Hoon et al. 2004), with the following parameters: median centering and normalization of genes for adjusting data and centroid linkage clustering for both genes and arrays. A dendrogram was generated and viewed using the Java Treeview V1.3.3 program (Page 1996). To enable automatic functional annotation of elephant seal proteins, we first identified their human homologs using BLAST searches (FASTA program v36; downloaded from http://fasta.bioch.virginia.edu/fasta_www2/fasta_down.shtml) against Swissprot-derived human protein sequences (20 427 entries, November 2023), combined with a careful

examination of protein names and gene symbols. Only the best hits were retained, and inspection of the relevance of the matches one by one led us to reject only three entries out of the 1,708 quantified proteins. Functional annotation enrichment analysis was then performed using human protein identifiers from the list of differentially expressed proteins, including present/absent cases, using the desktop version of DAVID (Ease V2.0) and an updated (November 2023) version of Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) databases generated using the MSDA software (Carapito et al. 2014). All the Swissprot-derived human protein sequences used previously for BLAST searches were used here as the enrichment background. Enriched GO terms were filtered by only considering those with a Benjamini p-value lower than 0.05 and a fold enrichment higher than 1.5. Enriched GO terms were grouped together into broad functional categories, which were then considered as enriched broad functions. KEGG mapping tools (Kanehisa and Sato 2019) were used for complementary biological interpretation of our proteomics dataset.

e. Gene expression – real-time reverse-transcription PCR

Five hundred nanograms of RNA were reverse transcribed using the Primescript RT Reagent kit (TAKARA BioEurope SAS) according to the manufacturer's instructions. cDNAs were used to perform real-time RT-PCRs. We investigated different genes involved in metabolic response to hypoxia, oxidative stress, and exercise. We selected a complex I subunit gene expression (NDUFS3), two genes involved in protein turnover (mTOR and Trim63), one related to muscular adaptive response to exercise and oxidative stress (PGC1 α), one involved in lipogenesis (ACCb), and the two transcription factors HIF-1 α and NRF2.

Real-time PCRs were made using primers specially designed for the study (Table 16). Amplification (45 cycles of denaturation at 95 °C for 15 s, annealing at 60 °C for 15 s, and extension at 72°C for 45 s) was monitored using SYBR green (GoTag® qPCR kit, Promega, France). Three housekeeping genes were tested: actin (ACT), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), and succinate dehydrogenase complex flavoprotein subunit A (SDHA). GeNorm software was used to choose the best internal control, and the combination of ACT/SDHA was kept (M = 0.029). Fold change was calculated by the Pfaffl method. All results were obtained in duplicates (CV < 0.5%).

RNA target	Primers sequences		Size of PCR product (bp)	Target accession number	Gene ID
	Forward	Reverse			
GAPDH	CAAGGCTGAGAACGGGAAGC	ATCGGCAGAGGGAGCAGAGA	202	XM_035028393.1	118025740
ACT	CGGTCAGTTCATGGCTGAGG	AAGGCTCGGACCTTCCAAC	195	XM_035025796.1	118024176
SDHA	AGGAATCAATGCTGCTCTGGG	AGCCAGTCGGAGCCCTTCA	84	XM_034998865.1 XM_034998866.1	118006277
NDUFS3	GGCTTCGAGGGACATCCTTT	CCGCTTCACCTCATCGTCAT	81	XM_035012846.1	118015844
HIF-1 α	GTGAGCTCGCATCTTGATAAGGC	GGATGAGTAAAATCAAACACAC	266	XM_034992741.1 XM_034992742.1 XM_034992743.1	118002352
NRF2	GGAAGTGAACAAGATTTGG	CACAAGGAATACATTGCCATC	214	XM_035007669.1 XM_035007670.1 XM_035007671.1 XM_035007672.1 XM_035007673.1 XM_035007674.1	118012291
ACCB	CTGAGTTTGTACACGCTTTGG	CGTTGCGGAACATCTCATAGG	126	XM_035017196.1 XM_035017197.1 XM_035017198.1 XM_035017199.1	118018582
PGC1a	GTTGCCTGCATGAGTGTGTG	TAGAGACGGCTCTTCTGCCT	501	XM_035005210.1 XM_035005211.1	118010659
mTOR	ACCAGCCGATCATTGCATT	GGGTGTTACCAGGCCAAAG	183	XM_035019802.1 XM_035019803.1 XM_035019804.1 XM_035019805.1 XM_035019806.1 XR_004681791.1	118020008
Trim63	CCGTCACGAGGTGATCATGG	AGCACGTGGGCATCTCACAC	194	XM_035019430.1 XM_035019431.1	118019849

Table 16 : sequence of the oligonucleotide primers used in real time RT-qPCR.

f. Plasma measurements

Plasma levels of 8-isoprostanes (8-isoPGF 2α) were measured in duplicate using a competitive EIA assay kit (Cell BioLabs, San Diego, CA, USA). Plasma protein carbonyls (PC) were also measured in triplicate using commercially available ELISA kits (Cell BioLabs, San Diego, CA, USA,) (Vázquez-Medina et al. 2010). Total protein content was measured using the BCA Protein Assay (ThermoFischer Scientific, Rockford, USA).

g. Statistical analysis

The normality of the data distribution and homoscedasticity were checked using the Shapiro-Wilk test ($P > 0.01$) and Bartlett test ($P > 0.01$), respectively, in the R software environment (v4.2.2) (R Core Team). For the LC-MS/MS analysis, protein abundances in

juvenile and adult individuals were compared using Welch two-sample t-tests ($P < 0.05$ required to conclude on differential expression levels). Of the differentially expressed proteins ($P < 0.05$), subsequent analyses and interpretations considered only those whose levels differed by at least 40% between the two groups of elephant seals. Results are expressed as mean \pm standard error unless otherwise specified. For high-resolution respirometry, gene expression and oxidative damage, juvenile and adult SES were compared using Wilcoxon tests.

D. Results

The mean body mass of juvenile female SES was 103.5 ± 6.6 kg, with a mean body length of 140 ± 4.6 cm. Adult females were sampled at the end of the lactation period with a mean body mass of 294 ± 19.8 kg, and a body length of 247.5 ± 8.8 cm.

a. High-resolution respirometry

Muscle mass-specific O_2 fluxes in juveniles and adults are illustrated in Figure 42, based on the sequential addition of each protocol component as described in Table 15. We found no differences in O_2 fluxes between juveniles and adult SES in the presence of either carbohydrate-related or fatty acid-related substrates, indicating a general similarity in mitochondrial functional capacity between the two stages of life. In both protocols, the addition of FCCP (MAX_{Cl+ClI}) did not increase O_2 fluxes, indicating that the muscle mitochondria of juvenile and adult SES were working at their maximal capacity. However, we observed a greater OXPHOS coupling control factor (OXPHOS-LEAK/OXPHOS) in the presence of fatty acids in the juveniles (0.576 ± 0.030) compared to the adults (0.377 ± 0.090 , Wilcoxon test, $W = 3$, $p = 0.03$, Figures 42A and 42C). In adults, LEAK was higher in the presence of fatty acids than carbohydrate-like substrates (5.68 ± 0.75 vs 2.18 ± 0.75 , Wilcoxon test, $W = 3$, $p = 0.02$). As our LEAK values were very low, we could not use residual oxygen consumption as a correction factor for all mitochondrial respiratory rates; we are likely at the limit of the sensitivity of the machine. We kept the raw values and reported the residuals (Figure 42).

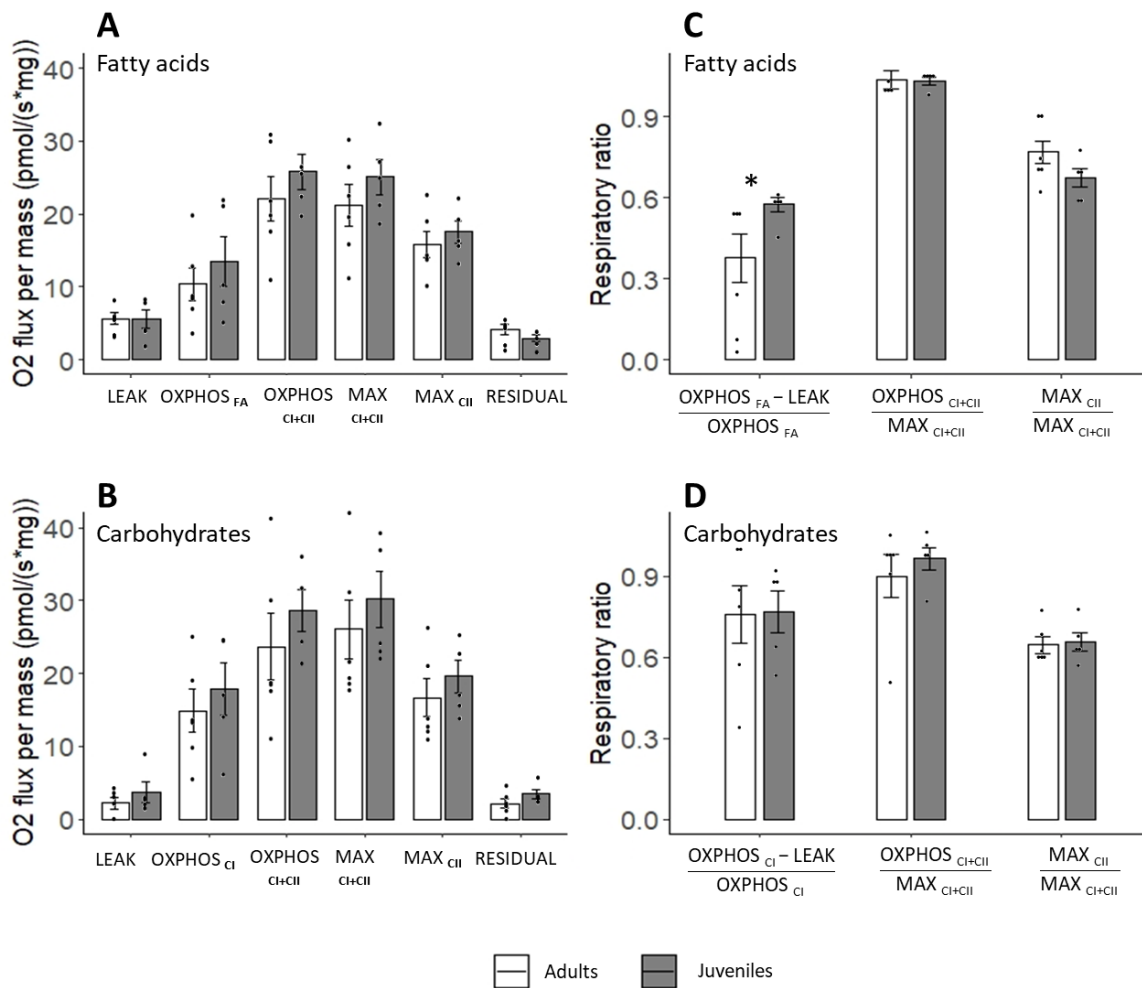


Figure 42 : mitochondrial respiratory flux in juvenile (n = 5) and adult (n = 6) southern elephant seals' muscle

A. Protocol A (fatty acids). B. Protocol B (carbohydrates) and respiratory ratios (C. Protocol A, D. Protocol B). Ratios of respiratory rates were calculated to assess the OXPPOS coupling control factor, calculated as $(\text{OXPPOS}_{\text{CI}} - \text{LEAK}) / \text{OXPPOS}_{\text{CI}}$, the contribution of Complex I+II coupled respiration to Maximal non-coupled Complex I+II respiration ($\text{OXPPOS}_{\text{CI+CII}} / \text{MAX}_{\text{CI+CII}}$), and the relative contribution of Maximal non-coupled Complex II respiration capacity to Maximal non-coupled Complex I+II respiration ($\text{MAX}_{\text{CII}} / \text{MAX}_{\text{CI+CII}}$). Statistical significance (* $p < 0.05$, Wilcoxon test). Results are expressed as mean \pm standard error.

b. LC-MS/MS

We identified 2,065 proteins in muscle, of which 1,708 could be accurately quantified, and we found significant age effects for the abundance of 270 muscle proteins, with 128 of them being increased and 142 decreased in juvenile southern elephant seals compared with

adults (Figure 43A). Three proteins associated with protein turnover and small-molecule transport across the mitochondrial membrane were well detected in adults but remained below our detection limit for juveniles. The same applies to eight proteins related to cell integrity and mobility, cell matricial components or the immune system, which were only detected in juvenile samples.

The most significant differences observed in muscle protein levels were in the mitochondrial pathways (Figure 43B) with up-regulation in juveniles (Figure 44). NADH dehydrogenase and cytochrome c oxidase of the respiratory electron chain were up-regulated, but there was no difference in citrate synthase. The expression of several proteins involved in the TCA cycle (pyruvate dehydrogenase, fumarate hydratase, and isocitrate dehydrogenase) and fatty acid β -oxidation (ACADM, ECI1, and HCDH) was increased in juveniles. Mitochondrial transporters were also increased in juveniles (M2OM for malate/alpha-oxoglutarate, acylglycerol kinase, and AGK for protein import), as well as mitochondrial biogenesis and morphogenesis (identified by STML2, TMM11), and the energy cell sensor protein kinase AMPk γ 1. No differences in glycolysis were, however, observed.

The expression of most of the proteins involved in oxidative defenses was decreased in juveniles, including catalase, superoxide dismutase (SOD1), peroxidase (PRDX), glutathione peroxidase 3 (GPx3), one glutathione transferase (GST), thioreductase (TRXR1), and glutathione reductase (GR). Only two other GSTs (kappa and omega) were increased in juveniles. We found no difference in xanthine oxidase, GPx1 and 4, SOD2 and SOD3, or glutathione synthetase. As expected, because such molecules are generally expressed at low levels, Nrf2, the redox-sensitive transcription factor that controls the expression of antioxidant genes, was not detected with mass spectrometry.

Proteins of the HIF-1 signaling pathway involved in the adaptive response to hypoxia were detected. Although HIF-1 α itself could not be detected, HIF1N, an HIF1- α inhibitor, was measured; no difference was observed between the juveniles and adults. However, EGLN1, a cellular oxygen sensor involved in hypoxia-influenced processes known to regulate the HIF1 signaling pathway, was more weakly expressed in juveniles. The lower myoglobin levels (reduced oxygen stores) and expression of pyruvate dehydrogenase (PDK1) involved in the metabolic response to hypoxia suggest that the accumulation of large muscle oxygen stores and the acquisition of fully mature systems to respond safely to low O₂ availability could be

the result of processes that develop with age and/or require preconditioning in southern elephant seals.

Finally, proteins involved in cold response, such as RBM3, a cold-induced mRNA-binding protein, were less expressed in juveniles than adults. No difference in CIRPB expression was noticed.

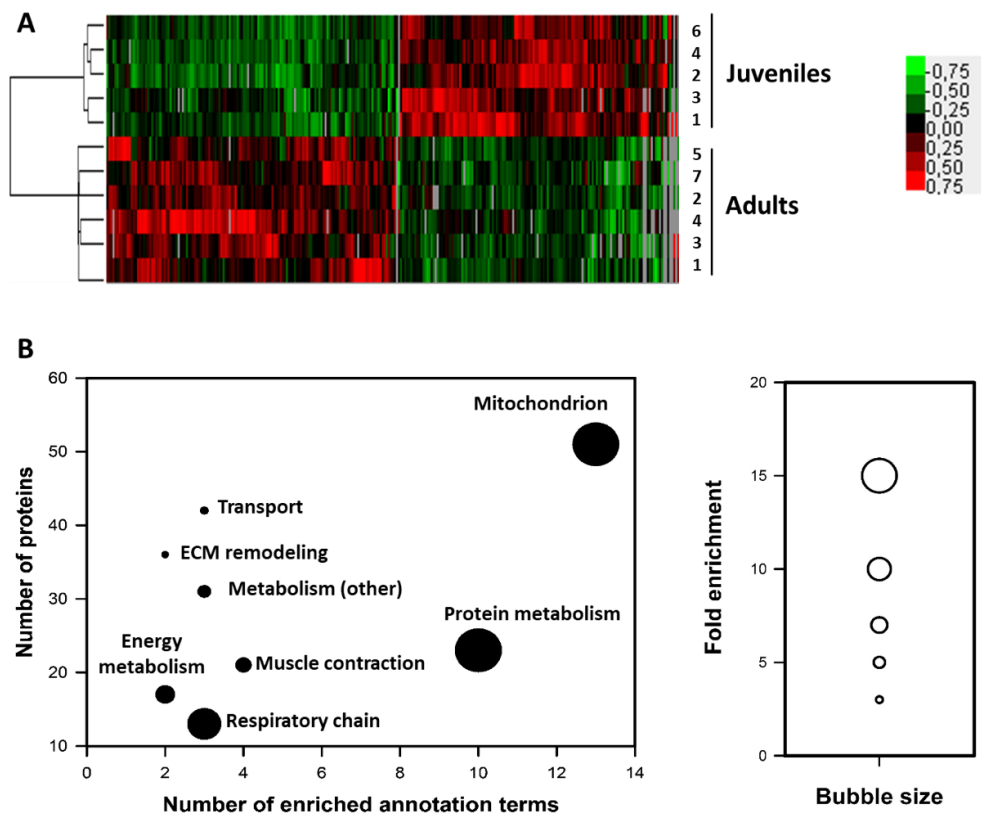


Figure 43 : overview of SES muscle proteomic between juvenile and adult SES.

Changes in the proteome of the *longissimus dorsi* muscle between juveniles (N = 5) and adults (N = 6) are shown as heat maps of differentially expressed proteins that were produced by hierarchical clustering (A). Signal values between groups were successfully discriminated (green, black, and red boxes represent downregulated, intermediate, and upregulated proteins, respectively). Functional annotation analysis from differential proteins revealed enriched Gene Ontology terms, which allowed the determination of broad functions significantly affected by age, i.e., regular exposition to stressful events, physical activity, fasting (B; filled circles represent the broad functions depicted by proteins that are discussed in this paper).

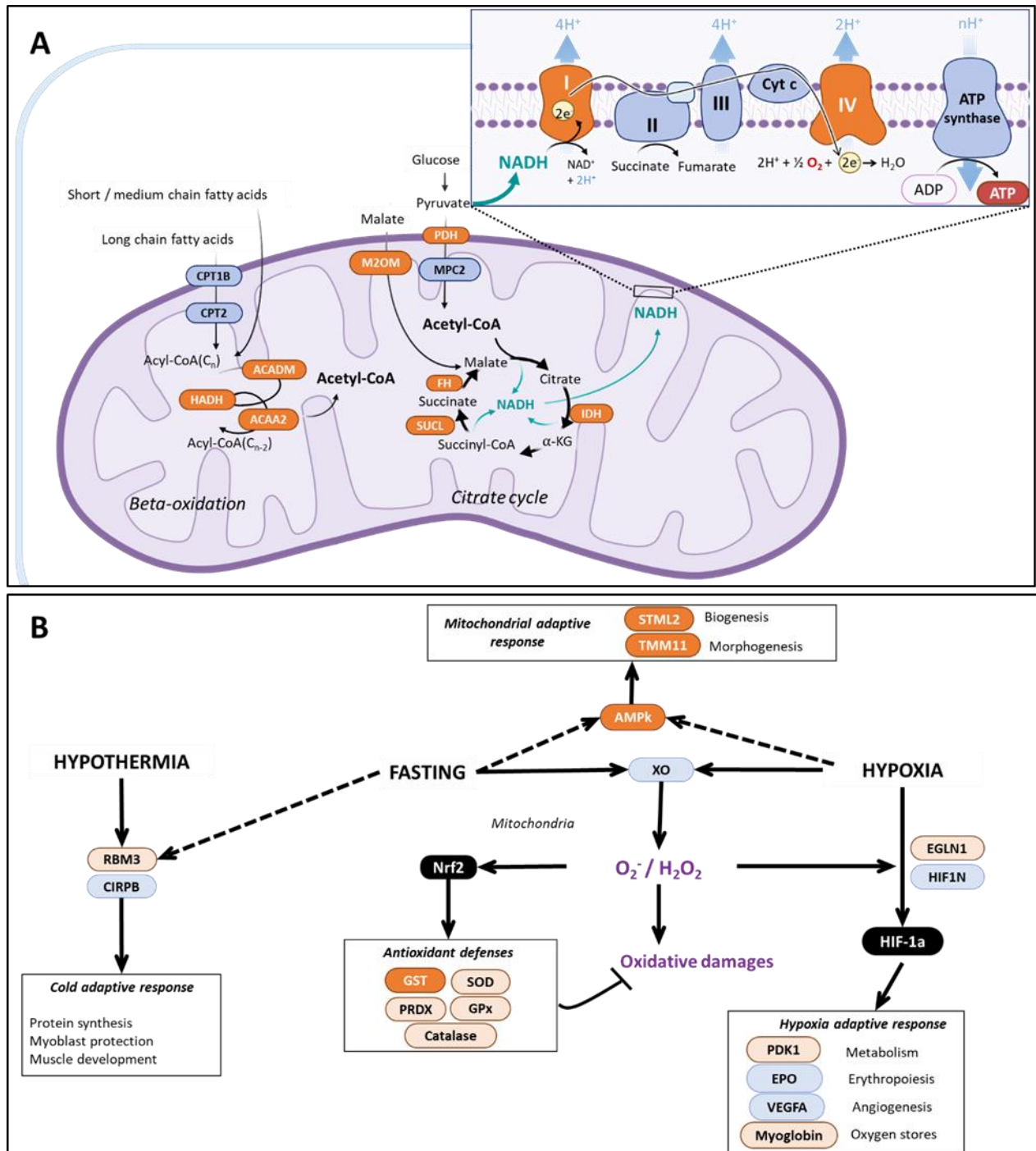


Figure 44 : regulation of key metabolic pathways in the *longissimus dorsi* muscle of juveniles (N = 5) and adult SES (N = 6).

The relative abundance is shown using the following color code: significantly (Welch student and paired Student tests; $P < 0.05$) up-regulated proteins in juveniles are shown in dark orange boxes with white text. Down-regulated proteins in juveniles are in light orange boxes with black text. Blue boxes show proteins that did not change, and black boxes show undetected proteins. A: Mitochondrial pathways. B: Schematic representation of the proposed mechanisms that activate protective responses to oxidative stress, hypoxia, calorie restriction, physical activity, and/or hypothermia.

c. Gene expression

Individual values are available in Table S1 (end of Chapter 3). We confirmed an increase in gene expression of mitochondrial respiratory chain complex I in juveniles (higher NDUFS3). We also found an up-regulation of the peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator-1 α (PGC-1 α) in juveniles. Gene expression of both mTOR and Trim63, related to protein turnover, was increased in adults. No difference was found between our groups for HIF-1 α , NRF2, and ACCb (Table 17).

Gene	Fold change (juvenile / adults)	W	P value
NDUFS3	1.59	29	0.009
HIF-1 α	-1.10	12	0.662
NRF2	-1.13	12	0.662
ACCb	-1.24	4	0.051
PGC1a	2.28	29	0.009
mTOR	-1.45	2	0.017
Trim63	-2.83	2	0.017

Table 17: Gene expression in juvenile (N=5) and adult (N=6) female southern elephant seals.

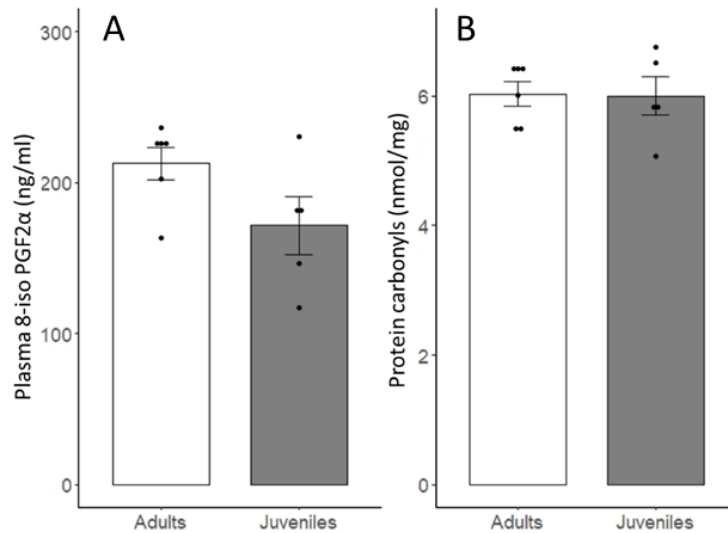
Gene expression was evaluated by real-time RT-qPCR and normalized to the expression of the reference genes ACT/SDHA. Fold change was calculated by the Pfaffl method. All results were obtained in duplicates (CV < 0,5%). P values are indicated for the comparison of juvenile and adult southern elephant seal transcripts as determined by the Wilcoxon W-test. A positive fold change means an increased gene expression in juveniles compared to adults.

d. Oxidative damages

Plasma contents of 8-isoPGF2a and PC were measured to test whether repeated natural exposure to low O₂ partial pressure leads to oxidative damage as a proxy of oxidative stress (Figure 45). No difference was observed in either 8-isoPGF2a (juveniles: 171 \pm 19 ng/ml, adults: 213 \pm 10.9 ng/ml, Wilcoxon test, W = 7, p-value = 0.18) or PC (juveniles: 6.0 \pm 0.3 nmol/mg, adults: 6.0 \pm 0.2 nmol/mg, Wilcoxon test, W = 15, p-value = 1.0).

Figure 45: cellular oxidative damage in adult (n = 6) and juvenile (n = 5) female southern elephant seals.

A: plasma concentration of isoprostanes (8-isoPGF₂α). B: Plasma concentration of protein carbonyls (nmol per mg proteins).



E. Discussion

SES maintain significant physical activity during a dive while exposed to limited O₂ availability. They still rely on aerobic metabolism even when reaching 1,000 m depth during a one-hour dive (Hindell et al. 1991), relying on complex behavioral and physiological adaptations (Davis 2014). This study is the first to investigate the ontogeny of muscle mitochondrial functional adaptations in relation to cellular and biochemical modifications in SES.

We are aware hyperoxic incubation presents the best compromise for respiratory studies on permeabilized fibers to avoid oxygen limitation as described in other studies, and if not, it should be shown that the preparation is not oxygen limited due to the spatial configuration of fiber bundles (Gnaiger 2003; Scandurra and Gnaiger 2010; Pesta and Gnaiger 2012). However, due to field constraints and a very limited sample size, we were not able to add oxygen in the chambers or to sample another animal to test for oxygen limitation. Consequently, we know this could impact our results by lowering the respiratory flux we measured. However, as all fibers were approximately the same size and mass, prepared by the same person, and as we are interested in the comparison of respiratory ratios, we believe this would have a small impact on the results we discuss below. Nevertheless, other analyses in hyperoxic conditions in the future would be necessary.

Our results show a higher OXPHOS coupling control factor in juveniles in the presence of fatty acids, meaning a higher coupling efficiency. This finding was supported by an increase in several mitochondrial metabolic pathways in juveniles (beta-oxidation, citrate cycle, mitochondrial imports, and biogenesis). The opposite was found in juvenile and adult male NES, which indicates that a higher coupling control factor in adults was a mitochondrial adaptive response to diving (Chicco et al. 2014). However, our values for the OXPHOS coupling control factor in juvenile female SES are the same as those in juvenile male NES (around 0.6 for both fatty acid and carbohydrate use). Still, they are lower in our adult female SES than adult post-breeding male NES (0.3 versus 0.8) (Chicco et al. 2014). In our study, adult females were lactating, suggesting that the difference between our groups could depend on the physiological state of the adult females rather than chronic exposure to low O₂ availability. Indeed, among all reproductive costs, lactating demands the most energy. Many lactating mammals increase their energy intake by 60–200% (GITTLEMAN and THOMPSON 1988), but female elephant seals fast during the entire weaning period, exclusively relying on fat stores (Crocker et al. 2001). This completely changes lipid mobilization (Fowler et al. 2018) and the available fuel for the mother's metabolism. Non-fasting and still-active lactating mammals usually do not show any change in muscle mitochondrial activity (Favorit et al. 2021). Due to low energy availability, we could still expect behavioral and physiological adaptations, such as low activity and metabolic rate, compared to males that fight during breeding. Surprisingly, a previous study in molting female NES showed no changes in muscle respiratory capacity before and after the molt, while they also faced a metabolically costly event while remaining on land (Wright et al. 2020). That being said, the fact that SES strictly fast and remain on land all the time during the breeding and molting periods is now being questioned, and females may be more active when molting than lactating (Charlanne et al. 2024). Also, during post-weaning, juvenile SES are known to progressively increase their physical activity and time at sea, surprisingly even more if they do not have sufficient energy reserves (Modig et al. 1997; Piot et al. 2024). This suggests juveniles must train and stimulate their muscles as much as possible before their first departure to sea. High levels of physical activity could explain the greater mitochondrial coupling efficiency in our juveniles, that may be more active than lactating females. In that line, juveniles' muscles showed an increase in PGC1 α gene expression, known to support the muscular adaptive response to exercise by enhancing mitochondrial biogenesis, fatty acid transporters, and angiogenesis in skeletal muscle (Baar et

al. 2003; Tadaishi et al. 2011). This is consistent with the up-regulation of energetic mitochondrial pathways (beta-oxidation, citrate cycle, Figure 44A), biogenesis and morphogenesis, and of the energy cell sensor AMPk, as reported in Figure 44B. Consequently, the changes we observed in mitochondrial coupling efficiency may result from different activity levels and physiological states rather than chronic exposure to hypoxia. In this line, we expected a lower expression of ACCb in juveniles, as AMPk is responsible for its phosphorylation and degradation, and it inhibits muscle fat oxidation (Tomas et al. 2002). The decrease we observed in juveniles' muscles is at the significance limit ($p=0,051$), probably due to our small sample size ($N = 5$ and $N = 6$). However, in this study, we lack information on the fiber type, which proportion is known to differ between juvenile (mainly type II) and adults (type I only) (Moore et al. 2014). Low oxidative capacity was reported in association with the type I fibers in adults NES and has also been seen in Weddell seals (Kanatous et al. 2008), which could be indicative of a low rate of mitochondrial oxygen consumption. Although we did not find any differences in oxygen flux between our groups, future analyses considering fiber type would be necessary to better explain muscular metabolic differences or similarities. The difference in OXPHOS coupling control factor between juvenile and adult SES was significant in the presence of fatty acids and was higher than in the presence of carbohydrates. Also, in adult females, a higher LEAK was observed in the presence of fatty acids and was also reported in NES (Chicco et al. 2014; Wright et al. 2020), which is consistent as seals mostly rely on fat reserves. Even for the pups, milk lipid content increases from 25% to 55% during lactation (McDonald and Crocker 2006; Fowler et al. 2014). Consequently, it was not surprising that weaned juveniles already use lipids more efficiently than carbohydrates.

Finally, changes in the OXPHOS coupling factor can be related to modifications to OXPHOS and/or LEAK. In our study, this difference is rather explained by a higher LEAK relative to OXPHOS capacity in adults. A more significant LEAK is mediated by an increase in uncoupling proteins, which fatty acids or ROS may activate (Parker et al. 2008; Jastroch et al. 2010). An increase in LEAK is also known to reduce ROS production (Speakman et al. 2004). Because adult females fast longer than juveniles (approximately three weeks versus 10-15 days in juveniles) and have already regularly experienced calorie restrictions, changes in LEAK may be an adaptation to higher punctual and/or chronic ROS production. Altogether, these data highlight the plasticity of mitochondrial respiratory function to meet the bioenergetic disequilibrium and physiological stresses diving mammals experience on land.

Cellular and molecular responses involved in the seal's adaptations to low O₂ availability and protection against ischemia/reperfusion are well described. HIF-1 is known to control the adaptive response to hypoxia by stimulating many physiological responses, such as erythropoiesis, angiogenesis, or myoglobin level (Johnson et al. 2004, 2005; Vázquez-Medina et al. 2011c). No difference was found in HIF-1 α gene expression between juveniles and adults, and HIF-1 α factor was not detected at the protein level. However, the HIF pathway involves several molecular interactions responsible for the degradation of HIF-1 α by intracellular proteases, highlighting the complex regulation of this adaptive response. In our proteomic analysis, several markers involved in HIF-1 α pathway were down-regulated in juveniles (HIF-N, EGLN1), and we also had indirect evidence that the HIF pathway was increased in adults regularly exposed to hypoxia (increased metabolic enzymes involved in the hypoxia response such as PDK1, or myoglobin). This is consistent with a progressive increase in the diving performance and aerobic capacity of adult muscles with more regular exposure to hypoxia, as already reported in post-weaned seals (NES (Somo et al. 2015); Weddell seals (Kanatous et al. 2008); Antarctic fur seals (LaRosa et al. 2012)). At a smaller scale, a punctual increase in HIF was also reported as a direct response to voluntary submersion in NES (Vázquez-Medina et al. 2011c). As our juveniles were sampled early during the post-weaning period, we believe they were not yet sufficiently exposed to apnea episodes to stimulate this pathway. They may, therefore, not be able to show either a punctual or long-term response to hypoxia compared to adults that are already used to long and deep dives. This was already reported in NES pups, showing an increase of HIF-1 α only from the seventh week of the post-weaning period (Soñanez-Organis et al. 2013).

The adaptive response to oxidative stress consists of upregulating antioxidant genes in response to increased oxidant production. For instance, an increase in antioxidant defenses was previously reported in NES after a voluntary submersion (Vázquez-Medina et al. 2011c). This response is mediated through the Nrf2 transcription factor. In our study, we could not detect Nrf2 at the protein level, and no difference in Nrf2 expression was found. In contrast, antioxidant defenses such as SOD, PRDX, Gpx, and catalase were up-regulated in adults compared to juveniles, as well as protein turnover (on the basis of higher mRNA levels of mTOR and Trim63 in adults), known to contribute to oxidized soluble cell protein elimination (Rivett 1985). This is consistent with the more pronounced oxidative stress experienced by

adults throughout their lives as they are older and have regularly performed prolonged apnea. That said, we found no difference in lipid and protein oxidation between our groups (Figure 45), both good indicators of ROS production and antioxidant defenses (Levine et al. 1994; Roberts and Morrow 2000). These results align with previous studies suggesting that seals do not display more significant oxidative damage despite regular exposure to ischemia-reperfusion, as they compensate for a significant increase in antioxidant defenses (Murphy and Hochachka 1981; Wilhelm Filho et al. 2002; Zenteno-Savín et al. 2002; Vázquez-Medina et al. 2006, 2011c; Wright et al. 2020).

Finally, we found evidence for a less activated adaptive response to hypothermia in juveniles. The cold-adaptive response is mediated through two RNA-binding proteins, the RNA-binding motif protein 3 (RBM3) and the cold-inducible RNA-binding protein (CIRBP) (Zhu et al. 2016). These proteins are increased after cold exposure and during hypoxic conditions through HIF-1 α (Wellmann et al. 2004). We found no differences in CIRBP but observed a higher expression of RBM3 in adults, probably as a response to regular hypoxia exposure, activation of the HIF signaling pathway, and cold temperatures during the dives. RBM3 and CIRBP are also known to increase during hibernation in hibernating species when metabolic rate and body temperature drop (Williams et al. 2006; Sano et al. 2015; Chazarin et al. 2019), playing a major role in the response against oxidative stress and muscle mass maintenance during winter (Sakurai et al. 2013; Xia et al. 2013; Liu et al. 2015; Yang et al. 2017). Studies in both free-diving and captive seals showed decreased metabolic rate and oxygen consumption while diving (Kooyman et al. 1980; Castellini et al. 1992; Webb et al. 1998; Sparling and Fedak 2004). Therefore, the observed RBM3 activation and subsequent cold-adaptive response could be stimulated by cold water, exposure to low O₂ partial pressure, and/or lower metabolic rate during the first SES's at-sea travel. It could also limit muscle atrophy during on-land periods with low activity, while molting or lactating, and play a role in the antioxidant response (Chazarin et al. 2019).

As reported in Figure 44B, adaptive responses to hypoxia through HIF-1 α and oxidative stress through Nrf2 are strongly related, and both are stimulated by the production of ROS (Johnson et al. 2004; Vázquez-Medina et al. 2011a). Fasting is a stressful physiological event whose harmful effects have been well described in several species (Pascual et al. 2003; Morales et al. 2004), including the increase in protein damage and lipid peroxidation

(Sorensen et al. 2006; Wasselin et al. 2014). Seals experience fasting twice a year, i.e. during the molt and reproduction. Adults are then regularly exposed to caloric restriction. In that line, the up-regulation of PDK1 could be a response to regular caloric restriction to promote fatty acid oxidation (Jin et al. 2023). In elephant seals, fasting is the first physiological stress experienced in life, even before exposure to hypoxia, as juveniles remain on land and fast for about three weeks before their first departure to sea. Fasting in seals was shown to stimulate antioxidant defenses (Vázquez-Medina et al. 2011b). In our study, juveniles were sampled after approximately 10-15 days post-weaning; their fasting period was shorter than in the juvenile NES (5 weeks post-weaning (Reiter et al. 1978a)). Coupled with very short hypoxia exposure at the beginning of the post-weaning period compared to a few days before departure (Modig et al. 1997; Piot et al. 2024), this could explain the lower antioxidant defenses observed in our juveniles. This suggests that recently weaned juveniles progressively experience physiological stress, probably through their first apneas and fasting. The reasons for a long post-weaning fast remain enigmatic, even though it is believed to improve juvenile SES's swimming skills (Piot et al. 2024). Our results suggest that a longer post-weaning period could benefit juveniles by enhancing their muscular training and gradually activating their antioxidant system, which is particularly important due to the prolonged fasting period. This early activation could play a major preconditioning role in protecting against future oxidative stress induced by hypoxia-reperfusion and determine SES's physiological integrity and survival.

As mentioned before, the progressive increase in juveniles' physical activity and time spent at sea (Modig et al. 1997; Piot et al. 2024) might be responsible for a plastic mitochondrial response, characterized by a greater coupling efficiency and the up-regulation of energetic mitochondrial pathways (Figure 44A) and the AMPk pathway (Figure 44B). However, the AMPK response can also be stimulated by other physiological events, such as exposure to fasting or low O₂ partial pressure (Mungai et al. 2011; Weir et al. 2017). Consequently, mitochondrial functional adaptations and changes in energy metabolism observed in juveniles could reflect the combined effects of these physiological stresses experienced early in life. Hence, exposure to early stressful events may appear as a preconditioning period for the activation of pathways and adaptations that better equip SES to cope with the future stress imposed by long and deep dives in adults.

In summary, this study provides new evidence supporting how on-land constraints likely contribute to both immediate and long-term responses to physiological stresses in SES. Muscle mitochondrial plasticity likely allows animals to meet the bioenergetic disequilibrium they face on land, either for the first time in life or as a regular event. Hypoxia adaptive response and maturation of the antioxidant system are higher in adults, probably reflecting an adaptive response to regular stress exposure. The combination of fasting, physical activity, and short-term low O₂ partial pressure exposure seems to act as an early preconditioning to aquatic life. As juveniles only perform short at-sea travels and apneas compared to those during their first and subsequent long offshore trips, a long post-weaning fast could be mostly required to activate these adaptations rather than intense physical training to perform extreme dives.

F. List of abbreviations

EGLN1	Hypoxia-inducible factor prolyl hydroxylase 2
8-isoPGF2a	8-isoprostanes
GSH	Glutathione
GPx	Glutathione peroxidase
H ₂ O ₂	hydrogen peroxide
HIF-1 α	hypoxia inducible factor
Nox4	NADPH oxidase
Nrf2	NF-E2-related factor 2
PC	Protein carbonyls
PRDX	Peroxidase
SOD	Superoxide dismutase

G. Acknowledgements and funding

The present research project was supported by the Institut Polaire Français Paul-Emile Victor (IPEV program 1201), two doctoral fellowships from the French Ministry of Higher Education and Research and ANR (ANR HYPO2), and by French Proteomic Infrastructure (ProFI; ANR-10-INSB-08-03).

We thank the Terres Australes et Antarctiques Françaises for logistic support and the fieldwork volunteers who helped in surgical work (in alphabetic order: Jibril Azaymen, Lea Hippauf, Laurent Levy, Florence Niemetzky, Erwan Piot, and Nathan Thenon).

Table S1 : gene expression in juvenile (N = 5) and adult (N = 6) female southern elephant seals using ACT.SDHA as reference genes.

Fold change was calculated by the Pfaffl method. All results were obtained in duplicates (CV<0,5%).

	ACT	SDHA	ACT intermediate value	SDHA intermediate value
Efficiency	0.94	0.930		
	CT			
A1	25.09	22.79	5.69E-08	3.10E-07
A2	25.16	23.05	5.45E-08	2.62E-07
A3	25.61	23.55	4.04E-08	1.88E-07
A4	25.64	22.84	3.95E-08	3.00E-07
A5	25.03	22.49	5.94E-08	3.77E-07
A6	26.38	23.67	2.41E-08	1.74E-07
J1	26.39	23.07	2.40E-08	2.57E-07
J2	25.89	22.35	3.34E-08	4.15E-07
J3	25.76	22.87	3.66E-08	2.95E-07
J4	26.14	23.10	2.84E-08	2.53E-07
J5	25.39	22.19	4.66E-08	4.61E-07

NDUFS3	CT	NDUFS3 intermediate value	Normalized value
A1	24.10	6.33E-08	0.48
A2	24.16	6.07E-08	0.51
A3	24.93	3.59E-08	0.41
A4	23.82	7.70E-08	0.71
A5	23.70	8.33E-08	0.56
A6	24.99	3.44E-08	0.53
J1	23.97	6.92E-08	0.88
J2	23.44	9.97E-08	0.85
J3	23.43	1.01E-07	0.97
J4	24.46	4.94E-08	0.58
J5	22.96	1.39E-07	0.95
Efficiency			0.99
Gene expression ratio (juveniles/adults)			1.59
Fold change (juveniles/adults)			1.59

HIF-1 α	CT	NRF2 intermediate value	Normalized value
A1	24.87	6.04E-08	0.46
A2	25.12	5.11E-08	0.43
A3	25.55	3.84E-08	0.44
A4	24.95	5.73E-08	0.53
A5	25.05	5.34E-08	0.36
A6	24.87	6.02E-08	0.93
J1	25.50	3.97E-08	0.50
J2	25.31	4.49E-08	0.38
J3	24.91	5.87E-08	0.56
J4	25.66	3.55E-08	0.42
J5	24.89	5.94E-08	0.41
Efficiency			0.95
Gene expression ratio (juveniles/adults)			0.90
Fold change (juveniles/adults)			-1.10

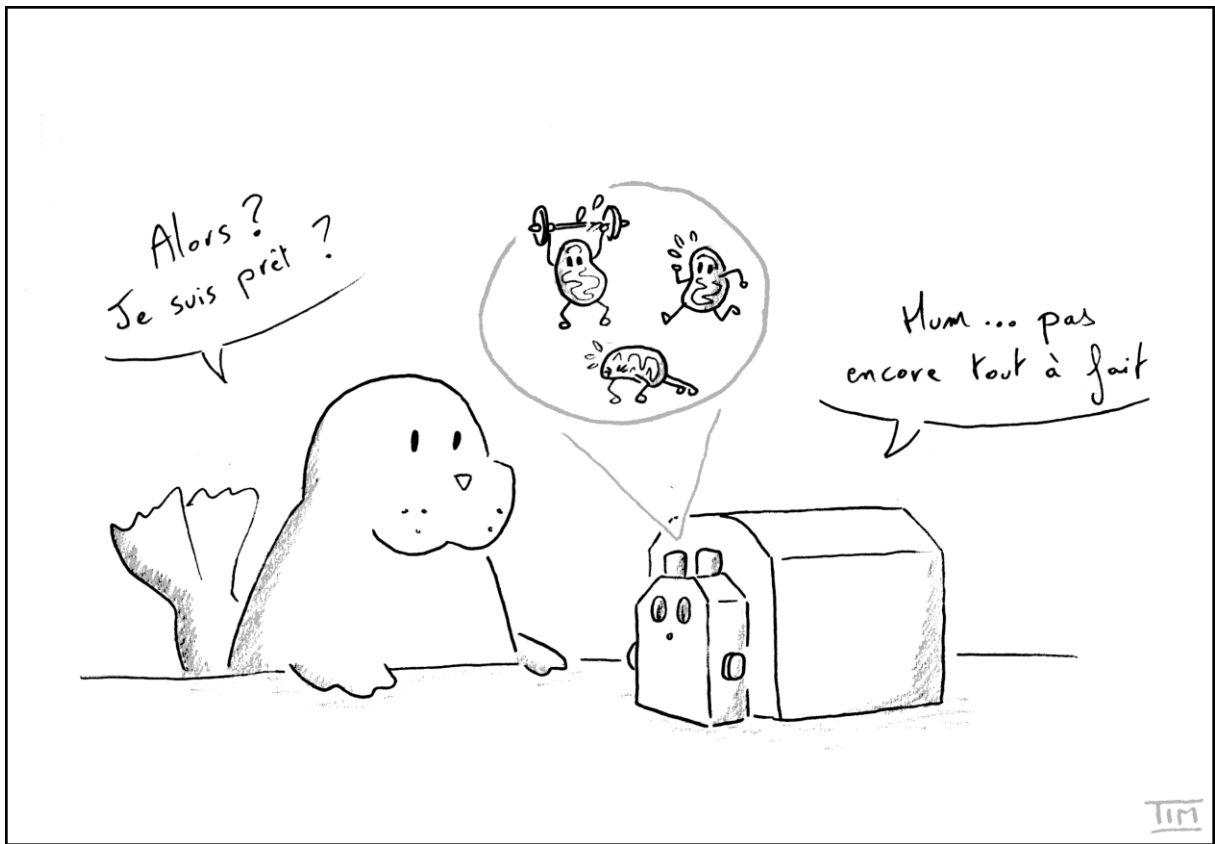
NRF2	CT	NRF2 intermediate value	Normalized value
A1	25.09	1.80E-07	1.36
A2	25.37	1.51E-07	1.26
A3	25.94	1.06E-07	1.22
A4	25.32	1.56E-07	1.43
A5	25.67	1.25E-07	0.84
A6	25.63	1.29E-07	1.99
J1	25.63	1.29E-07	1.64
J2	25.81	1.15E-07	0.98
J3	25.07	1.82E-07	1.76
J4	26.60	7.05E-08	0.83
J5	25.61	1.30E-07	0.89
Efficiency			0.86
Gene expression ratio (juveniles/adults)			0.68
Fold change (juveniles/adults)			-1.46

ACCB	CT	ACCB intermediate value	Normalized value
A1	25.26	6.71E-08	0.51
A2	25.21	6.91E-08	0.58
A3	25.45	5.93E-08	0.68
A4	25.55	5.53E-08	0.51
A5	24.95	8.19E-08	0.55
A6	26.34	3.31E-08	0.51
J1	26.41	3.15E-08	0.40
J2	25.82	4.65E-08	0.40
J3	25.82	4.64E-08	0.45
J4	25.76	4.82E-08	0.57
J5	25.35	6.33E-08	0.43
Efficiency			0.92
Gene expression ratio (juveniles/adults)			0.81
Fold change (juveniles/adults)			-1.24

PGC1a	CT	PGC1a intermediate value	Normalized value
A1	25.98	3.70E-08	0.28
A2	25.67	4.54E-08	0.38
A3	27.31	1.55E-08	0.18
A4	24.76	8.26E-08	0.76
A5	24.82	7.97E-08	0.53
A6	26.72	2.28E-08	0.35
J1	24.64	8.97E-08	1.14
J2	24.97	7.19E-08	0.61
J3	24.65	8.91E-08	0.86
J4	24.77	8.21E-08	0.97
J5	24.31	1.11E-07	0.76
Efficiency			0.93
Gene expression ratio (juveniles/adults)			2.28
Fold change (juveniles/adults)			2.28

mTOR	CT	mTOR intermediate value	Normalized value
A1	23.65	1.16E-07	0.88
A2	23.49	1.30E-07	1.09
A3	24.32	7.43E-08	0.85
A4	23.68	1.14E-07	1.05
A5	23.56	1.24E-07	0.83
A6	23.96	9.44E-08	1.46
J1	24.76	5.52E-08	0.70
J2	24.25	7.79E-08	0.66
J3	24.35	7.28E-08	0.70
J4	24.33	7.39E-08	0.87
J5	24.18	8.14E-08	0.56
Efficiency			0.96
Gene expression ratio (juveniles/adults)			0.69
Fold change (juveniles/adults)			-1.45

Trim63	CT	Trim63 intermediate value	Normalized value
A1	21.08	2.33E-06	17.53
A2	20.97	2.50E-06	20.91
A3	21.54	1.76E-06	20.15
A4	21.93	1.38E-06	12.68
A5	21.81	1.48E-06	9.92
A6	21.82	1.48E-06	22.76
J1	23.45	5.43E-07	6.91
J2	23.69	4.69E-07	3.98
J3	21.80	1.49E-06	14.39
J4	24.63	2.62E-07	3.09
J5	22.74	8.40E-07	5.73
Efficiency			0.85
Gene expression ratio (juveniles/adults)			0.35
Fold change (juveniles/adults)			-2.83



DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION



I. Introduction générale et résultats de la thèse

Dans ce travail, nous mettons en évidence différentes adaptations physiologiques et comportementales quel que soit l'événement et le stade de vie considéré. Ces adaptations présentent une importante variabilité entre les individus, que nous avons pu en partie mettre en relation avec les conditions environnementales et physiologiques des animaux. Après avoir résumé l'ensemble des résultats par chapitre dans la Table 18, nous discutons des adaptations à court et long terme, des facteurs jouant sur la variabilité interindividuelle rapportée dans cette étude, mais aussi des potentielles conséquences à long terme de cette variabilité exprimée dès le stade juvénile. Il apparaît que la condition corporelle en particulier joue un rôle central dans l'expression et la résultante des adaptations physiologiques et comportementales des animaux, que ces adaptations soient une réponse ponctuelle et immédiate aux contraintes ou bien long terme. Ces réponses face aux différents stress lors des émerSIONS pourraient jouer un rôle déterminant dans le conditionnement des jeunes avant leur premier départ en mer, mais également de manière récurrente tout au long de leur vie, au regard de l'interdépendance des différentes phases du cycle de ces animaux. La figure 46 résume les résultats énoncés ainsi que les différents facteurs jouant sur l'expression des adaptations chez les éléphants de mer du sud.

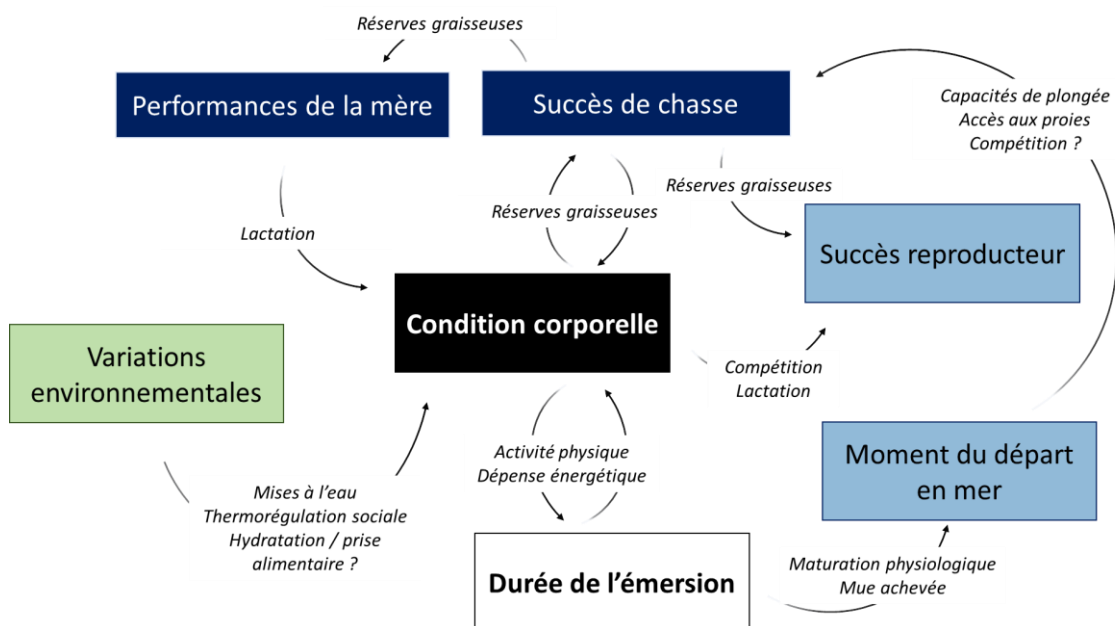


Figure 46 : bilan des facteurs jouant sur les adaptations exprimées par les éléphants de mer du sud à différents stades de vie, et possibles implications sur les phases suivantes.

Chapitre	Stade	Contraintes physiologiques	Contraintes environnementales	Trait mesuré	Résultat
1	Adulte	Etat corporel en début de mue Stade de mue	Milieu terrestre Variations météorologiques	Comportement de plongée	Pas d'effet des paramètres environnementaux ou physiologiques
				Comportement de barbotage	Hausse du nombre de femelles barbotant les jours calmes et chauds
		Comportement d'ingestion		Hausse du nombre de femelles présentant des événements d'ingestion les jours plus ensoleillés	
		Activité en mer Comportement d'ingestion Masse en début de mue		Perte de masse au cours de la mue	Les femelles réalisant des plongées et présentant des événements d'ingestion perdent moins de masse que les autres
2	Juvénile	Condition corporelle au sevrage Age	Milieu terrestre Variations météorologiques	Comportement de nage active	Les animaux plus vieux et en moins bonne condition au sevrage font plus de nage active Plus de nage active à l'aube et au crépuscule Tendance à plus de nage active les jours avec peu de vent
				Comportement de mise à l'eau	Animaux en meilleure condition au sevrage font plus de mises à l'eau Plus de mises à l'eau à l'aube et au crépuscule Plus de mises à l'eau les jours avec beaucoup de vent
3	Juvénile et adultes	Jeune Age Activité physique	Milieu aquatique : exposition récurrente à l'hypoxie	Respiration mitochondriale	Couplage mitochondrial plus efficace chez les juvéniles
				Réponse au stress oxydant	Défenses antioxydantes augmentées chez les adultes Dommages oxydants identiques chez les juvéniles et les adultes
				Métabolisme	Catabolisme lipidique et métabolisme mitochondrial plus élevés chez les juvéniles
				Réponse à l'hypoxie	Similaire chez les juvéniles et les adultes
				Réponse à l'hypothermie	Diminuée chez les juvéniles

Table 18 : résumé des résultats principaux à l'issu des 3 chapitres de ce travail.

Le chapitre concerné, le stade considéré, les contraintes physiologiques et / ou comportementales ainsi que le trait mesuré sont rapportés.

II. Variabilité des adaptations visant à équilibrer les dépenses face au compromis énergétique de l'événement en cours

A. Adaptations physiologiques et comportementales rapportées permettant d'équilibrer les dépenses énergétiques à terre

Dans la Table 19 ci-dessous, nous listons les adaptations observées et leur effet observé ou envisagés sur la balance énergétique pendant la phase à terre et l'événement considéré, la mue, la lactation, ou le post-sevrage.

Chapitre	Echelle	Adaptation observée	Stade	Effet suggéré sur la dépense énergétique
1	Comportement	Mises à l'eau	Adultes (mue)	Jours calmes et chauds - limite la dépense énergétique liée à la thermolyse
		Mises à l'eau passives	Juveniles	Jours venteux - limite la dépense énergétique liée à la thermogenèse
		Mises à l'eau actives	Juveniles	Importantes si mauvaise condition au sevrage - Compromis entre entraînement et réserves disponibles Tendance à être plus importantes les jours calmes – limite la dépense supplémentaire (houle)
1		Ingestions	Femelles en mue	Meilleure condition au départ - ingestion de proies reconstituant les réserves ou d' eau limitant le catabolisme lipidique
3	Physiologique	Efficacité mitochondriale > adultes	Juveniles	Réponse à la demande énergétique élevée et activité physique importante
		Catabolisme lipidique > adultes	Juveniles	
		Efficacité mitochondriale < juveniles	Adultes (lactation)	Réponse à la demande énergétique élevée de la lactation, mais immobiles

Table 19 : rappel des principaux résultats de ce travail de thèse spécifiquement en lien avec la balance énergétique des éléphants de mer du sud

Le chapitre concerné, le stade considéré, les adaptations physiologiques et/ou comportementales ainsi que l'effet sur la balance énergétique sont rapportés.

Nous observons une variabilité importante des réponses des animaux selon l'événement considéré, leurs réserves corporelles en début d'événement, et les facteurs météorologiques pendant la période à terre. Dans les parties suivantes, nous discutons de cette variabilité interindividuelle et des éléments l'influençant.

B. La condition corporelle occupe une place centrale dans la variabilité des réponses observées

a. La condition corporelle : moteur et cible des adaptations

Lorsque les animaux restent à terre, l'accès aux ressources est limité, voire absent, les obligeant à se reposer sur leurs réserves. Quelle que soit la période, les animaux perdent une grande quantité de masse, entre 1,2 kg (post-sevrage) et 7,7 kg par jour (lactation) (Costa et al. 1986 ; Boyd et al. 1993 ; Carlini et al. 2000). La durée autorisée à terre est donc extrêmement dépendante de l'état de ces réserves au début de la phase de jeun et de la consommation d'énergie par l'animal au cours de l'événement considéré.

Chez les jeunes éléphants de mer en post-sevrage, nous mettons en évidence un compromis se situant entre le temps disponible pour la maturation et l'entraînement au départ du premier voyage en mer, très dépendant de leur condition au sevrage. En ce sens, nous observons un comportement d'intensification des mises à l'eau actives à mesure que le départ en mer se rapproche, et que la condition corporelle se dégrade, cela d'autant plus tôt chez les individus avec peu de réserves au départ. Il apparaît que les juvéniles adaptent leur dépense énergétique selon leurs réserves disponibles, assurant un entraînement de nage intensif malgré un temps limité à terre, plutôt qu'économiser leurs réserves et rester inactifs. Cela coïncide avec les résultats précédents sur la même population montrant que les individus les plus gras passent le plus de temps inactifs sur terre comparés au plus maigres (Piot et al. 2024). Cela suggère aussi l'importance de l'entraînement et de l'activité physique dans la maturation physiologique, dont l'intensité aurait un plus grand effet que la durée. En accord avec cette idée, à l'échelle cellulaire, nous observons plusieurs adaptations en réponse à une demande énergétique importante, plutôt qu'à une économie d'énergie. L'efficacité de couplage des mitochondries, ainsi que le métabolisme mitochondrial des juvéniles sont élevés comparé à

des femelles en lactation. Aussi, les voies de l'AMPK, stimulées par une activité physique importante, sont plus activées chez eux. La demande énergétique des femelles en lactation est élevée (Costa et al. 1986), mais elles restent inactives, contrairement aux juvéniles. Cela coïncide avec la stratégie des juvéniles de favoriser l'activité physique, dont la nage active, en dépit des réserves limitées, pour préparer le premier voyage en mer. A l'inverse, pendant la lactation, les femelles présentent déjà les adaptations aux plongées extrêmes (hypoxie, stress oxydant). La priorité semble alors d'économiser de l'énergie, entre autres, avec des mitochondries moins actives.

Cependant, la présence ou non des adaptations à la plongée n'est pas le seul élément jouant sur la gestion de la balance énergétique chez ces animaux. En effet, nous montrons dans le Chapitre 1 que certaines femelles adultes en mue ne restent pas inactives et à terre, contrairement aux femelles en lactation. Si nous n'avons pas pu montrer un effet de la condition au moment de l'équipement, nous observons que les femelles qui vont en mer et qui ingèrent des aliments et/ou de l'eau perdent moins de masse que celles restant à terre. Ainsi, il semble avantageux pour certaines d'aller en mer pour chasser ou boire, plutôt qu'économiser de l'énergie en restant à terre.

b. Deux stratégies à terre ? Compromis entre durée de l'événement et condition corporelle, perspectives

En réponse au déséquilibre énergétique à terre, nous observons des comportements variables qui contribuent à rééquilibrer cette balance, qui pourraient représenter deux stratégies différentes. En effet, face à une quantité d'énergie limitée, on peut envisager deux scénarios qui viseraient à limiter les pertes énergétiques tout en assurant la réalisation d'un événement coûteux. La première serait de minimiser la durée de l'événement, en y mettant toute son énergie, sans épargner ses réserves, et avec un risque de départ en mauvaise condition. Cette stratégie assure cependant un départ en mer et une reprise de la prise de masse plus précoce. L'autre stratégie peut être de s'économiser, limiter les pertes énergétiques au maximum, se traduisant par un événement plus long, un départ plus tardif en mer, mais en meilleure condition. Dans la cadre de la mue par exemple, ces deux stratégies ont été rapportées chez différentes espèces de phocidés : le phoque tacheté et le phoque annelé muent rapidement (33 ± 4 jours et 28 ± 6 jours respectivement) et présentent une

augmentation significative de leur métabolisme pendant cette période. A l'inverse, le phoque barbu mue plus lentement (119 ± 2 jours), ce qui se traduit par un métabolisme de repos plus stable tout au long de l'année (Thometz et al. 2021). Dans ce travail de thèse, nous observons quelques éléments laissant suggérer ces différents scénarios, en lien avec l'état corporel.

Pendant le post-sevrage, il apparaît clairement que nos individus les plus maigres misent sur une activité plus intense, et un entraînement plus précoce avant le départ en mer. Il semble décisif de partir avec des réserves suffisantes, au regard de l'importance de ce paramètre dans le futur succès de chasse et la survie au premier voyage (Orgeret et al. 2019a). Cependant, partir trop tôt est un risque que le développement des capacités de plongées, comme celui des réserves d'oxygène, ne soit pas complet (Tift et al. 2013). Il y a alors un compromis entre les capacités et la condition au départ. Cela explique l'intensification de l'entraînement ; par effet de la condition corporelle et donc du temps disponible, on observe alors des individus en mauvaise condition qui passent peu de temps à terre, accélèrent potentiellement le développement de leurs capacités et maturation par une activité importante, et partent plus tôt en mer. De l'autre, des animaux avec suffisamment de réserves pour autoriser un post-sevrage plus long, qui augmentent progressivement leur activité et partent plus tard. Pour vérifier cette hypothèse, il serait intéressant de connaître la durée exacte du post-sevrage des animaux, et leur condition et l'avancée du développement de leur capacité de plongée au moment du départ. Cela permettrait d'estimer si le comportement d'intensification de l'entraînement est une réelle compensation des faibles réserves, ou bien s'il permet seulement de limiter les effets négatifs d'une mauvaise condition au sevrage, et combiner un départ en condition correcte avec un développement minimal. A terme, l'effet sur la survie lors du premier voyage serait également intéressant à connaître.

De la même façon, pendant la mue, les enjeux sont différents mais le compromis reste le même. Le processus est extrêmement coûteux, bien qu'il n'implique pas d'activité physique. La durée de la mue est influencée par le maintien d'une vascularisation importante, ce qui augmente les pertes énergétiques. La condition corporelle au début du processus conditionne alors le stock d'énergie disponible, à l'image des réserves des juvéniles en post-sevrage. Dans le Chapitre 1, nous montrons que certaines femelles vont en mer, ingèrent de l'eau et/ou des proies, et sont en meilleure condition que celles restant à terre. Or, si aller dans l'eau froide ne semble pas augmenter le métabolisme (Thometz et al. 2023), la température plus froide

peut stopper le processus de mue (Feltz and Fay 1966). Le compromis résiderait alors entre réduire la durée de la mue et ne pas aller en mer, ou un processus plus long mais ponctué de voyages en mer pour se nourrir ou boire, et limiter les pertes énergétiques (de Kock et al. 2021). La difficulté d'estimer la durée réelle de la mue ne nous a pas permis de mettre en évidence ce compromis et les conséquences sur la condition corporelle au départ en mer, mais il serait intéressant de l'estimer précisément, ainsi que la condition des femelles au moment de leur départ.

Ces deux événements que sont le post-sevrage et la mue semblent flexibles concernant les changements comportementaux et les mises à l'eau, bien que cela soit un comportement nouvellement décrit pendant la mue. La question se pose alors pour les femelles en lactation. La condition des juvéniles dépend de l'énergie transmise par la mère pendant cette période. Il est assumé que les femelles restent à terre (Campagna et al. 1993 ; Arnbom et al. 1997), car laisser le juvénile seul dans le harem est risqué (écrasement par les mâles, morsures par les autres femelles). L'allaitement régulier est aussi nécessaire pour constituer des réserves suffisantes. Cependant, en tant que « capital breeders », aucun comportement de mises à l'eau intermédiaires n'a été rapporté à ce jour. Soit les femelles sont effectivement bien plus contraintes que pendant les autres événements, et n'ont pas la possibilité d'exprimer un large répertoire comportemental, dont aller en mer, soit, comme pour la mue, positionner les éléphants de mer du sud comme « capital breeders » doit être questionné, comme cela a été fait chez d'autres animaux marins comme les tortues luth (Plot et al. 2013). Dans tous les cas, compte tenu des contraintes énergétiques de cette période, l'étude plus en détail du comportement à terre des femelles en lactation serait intéressant pour comparer avec les autres phases à terre.

c. Difficultés de mesure de la condition corporelle en milieu naturel

Dans l'étude du Chapitre 2, l'objectif principal était d'obtenir un suivi fin de la condition avec une mesure par semaine, en lien avec l'activité des juvéniles. Les six juvéniles équipés ont été suivis chaque semaine, pesés, et une mesure de composition corporelle par dilution isotopique a été réalisée. En plus de cela, cinq autres juvéniles non équipés d'accéléromètres ont été suivis de la même façon. Nous présentons en Figure 47 les résultats du suivi

hebdomadaire et de la variation de la condition corporelle des juvéniles au cours du post-sevrage. Trois d'entre eux n'ont pas pu être recapturés et présentent un seul point unique au sevrage. Pour presque tous les autres, les valeurs indiquent une augmentation de la masse grasse à un moment pendant le post-sevrage, ce qui est incompatible avec un jeûne strict.

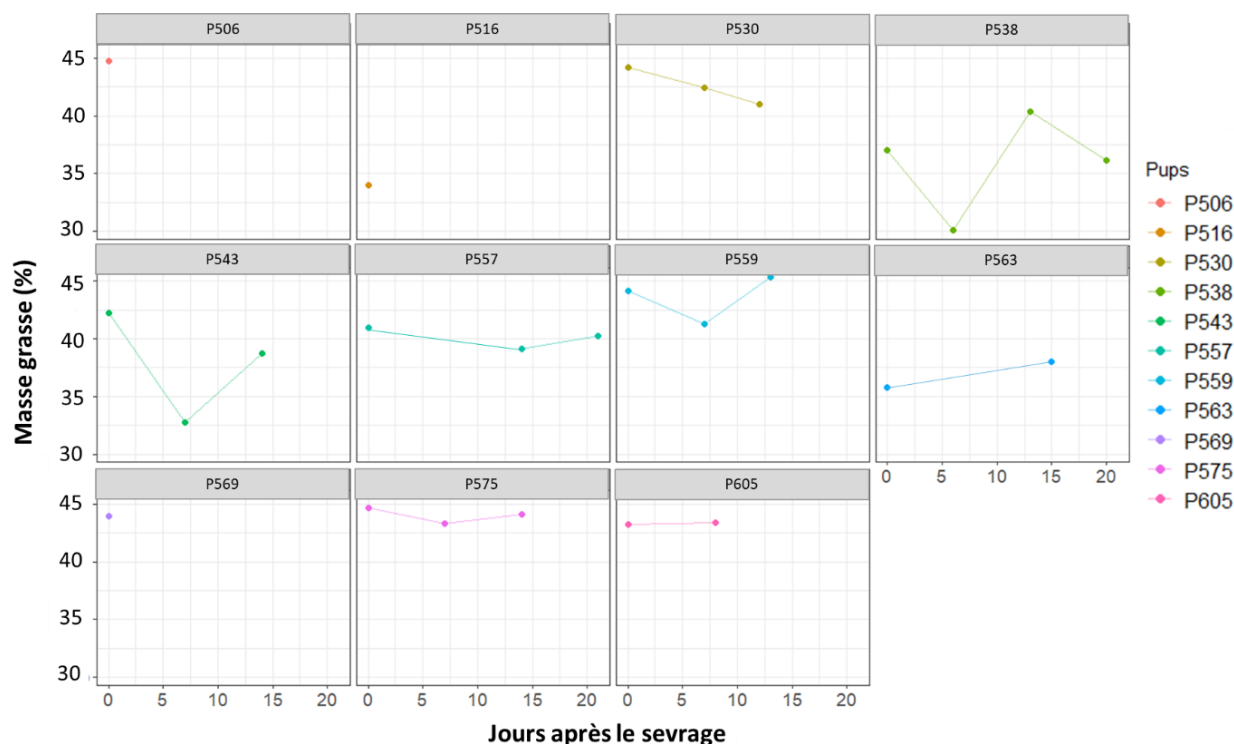


Figure 47: évolution de la masse grasse de jeunes éléphants de mer du sud pendant le post-sevrage.

Les animaux ont été injectés tous les sept jours avec de l'eau marquée pour mesurer leur composition corporelle. Données non publiées, N=11.

La méthode de dilution isotopique se base sur un coefficient d'hydratation relativement constant d'environ 70% pour estimer la masse maigre et déterminer la masse grasse (Reilly and Fedak 1990 ; Speakman 1998). Cependant, ce coefficient est probablement plus variable que nous le pensons, étant donné les mises à l'eau des juvéniles pendant le post-sevrage. Nous mettons en évidence des ingestions chez les femelles au cours de la mue, ce qui questionne s'il en est de même pour les juvéniles pendant le post-sevrage. Ainsi, si la mesure au moment du sevrage est fiable car les juvéniles n'ont pas encore passé de temps dans l'eau, il est probable qu'un suivi hebdomadaire soit biaisé par des potentielles ingestions et variations de ce coefficient d'hydratation, et donne des valeurs aberrantes, comme reporté

en Figure 46. D'autres études ont mesuré les variations de condition corporelle de jeunes éléphants de mer entre le début et la fin de la période de post-sevrage (Carlini et al. 2000, 2001) mais sur une durée particulièrement longue (plusieurs semaines). Par conséquent, il est probable que les variations de masse grasse soient si importantes (47% et 48% perdus en moyenne pendant le post-sevrage dans ces deux études) qu'elles masquent un biais potentiel d'une variation du coefficient d'hydratation.

Ainsi, si la méthode de dilution isotopique semble adaptée pour une mesure ponctuelle de composition corporelle, pour des animaux dans des conditions relativement similaires, en milieu naturel (le jour du sevrage par exemple), les résultats d'un suivi fin au cours duquel les activités des animaux sont mal connues et la perte de masse relativement réduite semblent difficiles à interpréter. Il est préférable de prendre ce genre de mesures plus espacées dans le temps, pour des variations de composition corporelles plus importantes. Pour un suivi plus régulier comme celui-ci, des mesures échographiques de la couche grasseuse sembleraient plus adaptées.

C. Prise en compte des variations environnementales et de l'impact sur la balance énergétique

Les deux premiers chapitres de ce travail de thèse mettent en évidence un effet des paramètres météorologiques sur le comportement des animaux. Les résultats suggèrent dans les deux cas une réponse à un stress thermique, bien que les périodes et les effets soient différents. D'un côté, les femelles en mue vont en mer plus souvent les jours chauds et calmes (températures élevées et vent faible), et ingèrent plus lorsque l'ensoleillement est important, alors que de l'autre côté, les juvéniles se mettent à l'eau sans signes de nage active les jours avec plus de vent. Selon la période, il apparaît que les animaux souffrent de la chaleur (mue) ou du froid (post-sevrage). Ces suggestions sont cohérentes avec les périodes considérées et les comportements observés. Pendant la mue, au cours de l'été austral, les températures peuvent monter jusqu'à 15,3 °C, avec un vent moyen de 8,8 m/s (Charlanne et al. 2024), sous un faible couvert nuageux. Souvent, on peut voir les animaux en inconfort thermique, se couvrir avec du sable, et se mettre à l'eau. A l'inverse, pendant le post-sevrage, fin d'hiver austral, les températures sont plus basses (5,1°C en moyenne, et un vent moyen de 11,6 m/s,

jusqu'à 17,8 m/s). Aussi, les juvéniles perdent leur pelage noir et dense à cette période, pour un pelage similaire aux adultes, et, en début de vie, peuvent être moins efficaces dans leur thermogénèse en raison des moindres réserves corporelles et de leur non-acclimatation au froid, contrairement aux adultes (Modig et al. 1997). Nous appuyons cette idée par les résultats du Chapitre 3, indiquant que la réponse au froid est diminuée chez les juvéniles par rapport aux adultes (expression plus faible de RBM3, protéine impliquée dans la réponse adaptative au froid). Cependant, contrairement aux femelles, nous ne mettons pas en évidence d'effet de la température ambiante. Cela pose la question de la part représentée par les facteurs environnementaux dans les changements comportementaux des juvéniles. L'absence d'effet de la température pourrait s'expliquer par notre faible effectif, la prise en compte d'une seule année (2022) contrairement aux femelles en mue (2014 à 2022), ou bien l'hypothèse que, pour les juvéniles, l'enjeu du premier voyage et de la maturation physiologique par l'entraînement serait plus déterminant dans la mise à l'eau que les paramètres météorologiques et les économies d'énergie. Toutefois, dans les deux cas, il apparaît que le comportement des adultes et des juvéniles permette de limiter l'inconfort thermique et toute dépense supplémentaire liée à la thermogénèse ou la thermolyse, selon la période. Les mises à l'eau permettent effectivement de s'affranchir de la contrainte environnementale en se plaçant dans un milieu plus tamponné. Cela remet en question la notion de coût des mises à l'eau, en particulier pour les femelles en mue, pour lesquelles cela a toujours été considéré comme trop coûteux en raison de la vascularisation nécessaire à la croissance de l'épiderme (Boyd et al. 1993). Plus précisément, il serait intéressant de quantifier le coût énergétique de ces mises à l'eau, par mesure précise de la condition corporelle ou de la dépense énergétique journalière totale (eau simplement ou doublement marquée), et dans quelle mesure les pertes par thermogénèse ou thermolyse dépasseraient ce coût et se traduiraient par une réponse comportementale comme les mises à l'eau de rafraîchissement.

Les contraintes environnementales peuvent jouer sur la dépense énergétique d'une autre façon que par l'intermédiaire d'un stress thermique. En effet, on observe une tendance chez les juvéniles à passer plus de temps à nager activement les jours avec peu de vent (Chapitre 2). Bien que non significatif, probablement en raison de notre faible effectif, et, encore une fois, de la seule année considérée, cette tendance opposée à celle des mises à l'eau sans nage

active est surprenante. Notre hypothèse est qu'en absence de vent, et par conséquent d'une houle et d'un courant plus faible, les juvéniles nageraient plus facilement et leur dépense énergétique serait plus faible dans ce contexte, pour une même mise à l'eau active. Dans le cadre de la mue, les mises à l'eau et le contact avec l'eau froide pourraient stopper le processus qui requiert une température cutanée minimale de 17°C (Feltz and Fay 1966). La durée de la mue n'a pas pu être précisément mesurée dans notre étude, mais il serait intéressant de quantifier l'effet des mises à l'eau sur celle-ci, et comprendre dans quelle mesure l'allongement du temps à terre par mises à l'eau est plus ou moins coûteux que le stress thermique en termes de condition corporelle au départ en mer.

III. Conditionnement à terre : mise en place des adaptations aux événements à venir

A. Les stress physiologiques à terre sont associés à des adaptations long terme

a. Stress et adaptations musculaires

Le tissu musculaire est le plus gros consommateur d'oxygène en activité, et particulièrement sollicité lors des plongées, et des déplacements des animaux (Millikan and Barcroft 1937). Dans cette étude, nous montrons l'importance de l'effet combiné de divers stress physiologiques expérimentés à terre dans la mise en place des adaptations musculaires aux futurs défis rencontrés.

Dans les chapitres 2 et 3, nous mettons en évidence que le post-sevrage est une phase critique dans le développement des capacités de plongée, mais pas uniquement par les premières expositions aux apnées, comme il a été suggéré précédemment (Blackwell and Le Boeuf 1993; Vázquez-Medina et al. 2011c; Allen et al. 2024). En effet, nous montrons que le post-sevrage est caractérisé par une exposition progressive à l'activité de nage qui, bien qu'elle puisse inclure des apnées, implique également une activité physique importante. Dans le chapitre 3, nous montrons effectivement l'activation de certaines voies métaboliques témoignant d'une réponse à une demande énergétique liée à une activité physique importante chez les juvéniles (AMPK, catabolisme lipidique, efficacité de couplage mitochondrial). En outre, en plus de

répondre à la demande de l'activité physique, la voie de l'AMPK stimule la biogenèse et morphogénèse mitochondriale, pouvant être un bénéfice lors des futures plongées (Bishop et al. 1996 ; Kanatous et al. 1999). Le jeûne, expérimenté pendant le sevrage, peut également stimuler cette voie de réponse. Nous rappelons les interrelations entre ces différentes voies dans la Figure 48 ci-dessous.

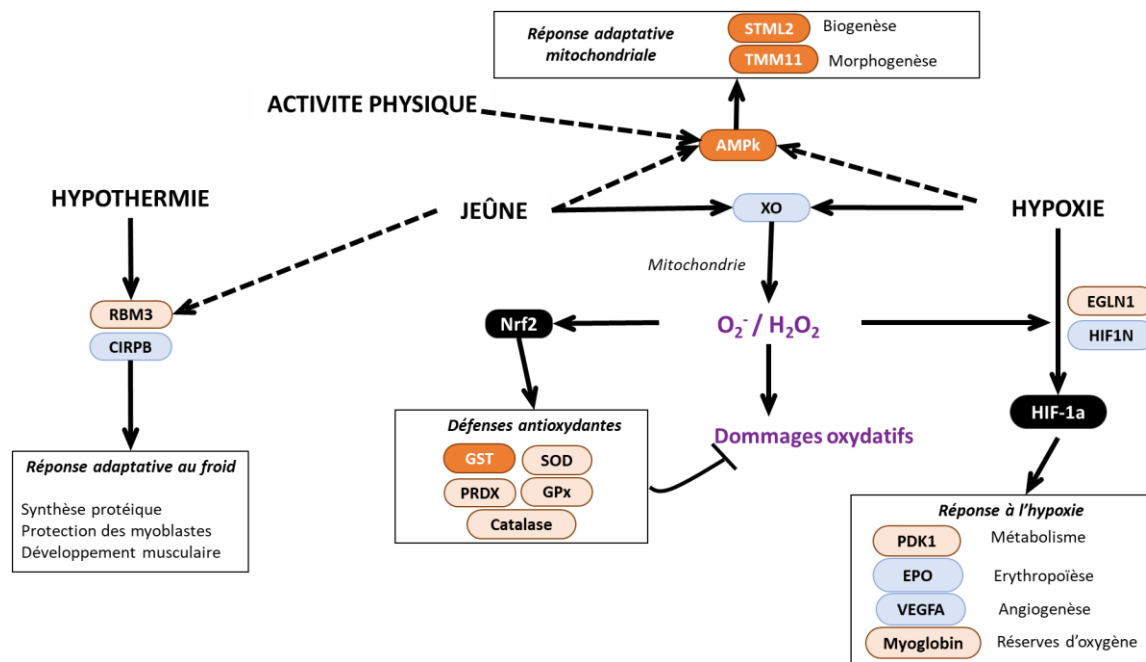


Figure 48: interrelations entre les différentes voies de réponse musculaires aux stress physiologiques expérimentés par l'éléphant de mer du sud et rappel des voies activées chez les juvéniles

Rappel des résultats de l'analyse protéomique du chapitre 3 et des relations entre les différentes voies de réponse aux stress : les protéines en orange foncé sont sur-exprimées chez les juvéniles par rapport aux femelles adultes en lactation, celles en orange clair sont sous-exprimées, celles en bleu ne présentent pas de différence d'expression, et celles en noir sont non détectées.

Au regard de cette figure, le jeûne apparaît comme un stress physiologique central dans la stimulation des réponses face au stress oxydant, mais aussi indirectement à l'hypoxie, et à l'hypothermie. Stimuler les défenses antioxydantes et les voies de l'hypoxie en amont permettrait de préparer la réponse à ces contraintes à venir lors du premier voyage en mer. Pourtant, nos juvéniles ne présentaient pas les voies de l'hypoxie ni des défenses antioxydantes stimulées. Ayant été échantillonnés en début de post-sevrage (première semaine à dix jours de post-sevrage), il est probable que l'exposition à ces stress ne soit pas suffisamment intense, ou le délai trop court pour observer une réponse, puisque l'exposition

aux apnées de repos et les mises à l'eau augmentent en fin de post-sevrage (Blackwell and Le Boeuf 1993). Cela rejoint le compromis entre un post-sevrage long, ou court mais marqué d'une activité de mise à l'eau intense, pour stimuler le développement des capacités de plongée, et qu'un stress physiologique plus intense pourrait éventuellement stimuler d'autant plus rapidement les réponses des animaux.

b. Mise en place des adaptations systémiques pendant le post-sevrage

L'objectif initial de l'étude était d'appréhender également les adaptations systémiques, dont le métabolisme pendant l'immersion de jeunes éléphants de mer du sud, et de le mettre en lien avec le fonctionnement musculaire des mêmes individus. Cependant, l'expérimentation sur une espèce protégée et en réserve naturelle ne nous a pas permis de réaliser les mesures métaboliques à l'échelle du corps entier. Toutefois, nos analyses apportent un aperçu de la mise en place de quelques adaptations systémiques.

En effet, dans le Chapitre 3, nous avons quantifié les dommages oxydatifs dans le plasma de femelles juvéniles et adultes éléphants de mer du sud, ce qui donne une représentation de la balance défenses/stress oxydant à l'échelle du corps entier, et pas uniquement musculaire. Nous montrons une balance équivalente entre juvéniles et adultes, puisque les dommages sur les lipides et les protéines ne sont pas différents. Les défenses antioxydantes sont augmentées dans les muscles des femelles adultes, ce qui est cohérent avec une exposition régulière au stress oxydant, et déjà connu chez les Phocidés (Zenteno-Savín et al. 2002 ; Crocker et al. 2016). Cependant, nous n'avons pas d'information sur l'exposition au stress oxydant des juvéniles, bien qu'on suppose qu'elle soit réduite, puisqu'ils ont été prélevés tôt pendant le post-sevrage. Aussi, si l'exercice est bien à l'origine d'un relargage des ROS en systémique (Nikolaidis et al. 2008), d'autres organes peuvent être à l'origine de la production de ROS, comme le cerveau, un autre organe privilégié pendant la plongée et gros consommateur d'oxygène (Love 1999 ; Martens et al. 2022). Par conséquent, l'approche systémique de la circulation du stress oxydant implique d'autres organes et défenses locales que les muscles, et sont intéressants à prendre en compte dans la compréhension de la balance oxydative générale.

Un autre aspect important dans les adaptations systémiques est le transport de l'oxygène aux organes, dont les muscles. Si nous nous sommes concentrés sur la consommation d'oxygène et la production d'énergie au niveau des muscles, l'étape précédente est l'optimisation de l'acheminement de l'oxygène par le sang et l'hémoglobine. De précédentes études sur les Phocidés rapportent une augmentation de la quantité d'hémoglobine et de globules rouges au cours du développement des juvéniles et suite à l'exposition aux premières apnées prolongées (Horning and Trillmich 1997b ; Noren et al. 2005 ; Clark et al. 2006 ; Thomas and Ono 2015). Cependant, peu de choses sont rapportées sur des changements potentiels d'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, un paramètre pourtant essentiel du transport d'oxygène jusqu'aux organes. L'affinité peut être différente selon la structure de l'hémoglobine, ou bien la présence de facteurs dans les globules rouges se liant à elle, comme le 2,3 BPG, ou acide 2,3-bisphosphoglycérique, qui réduit cette affinité (Qvist et al. 1981). La structure de l'hémoglobine a été étudiée chez différents pinnipèdes et s'avère être différente entre Otariidés et Phocidés. Précisément, l'hémoglobine des Phocidés possède plus de composants cathodiques (charge +), ce qui augmente fortement l'affinité pour l'oxygène, ce qui représenterait un avantage pour les plongées prolongées et justifierait leurs capacités de plongée supérieures par rapport aux Otariidés (Lincoln et al. 1973 ; Ollianas et al. 2000). Parmi les Phocidés, les éléphants de mer, qui battent les records de plongée (Hindell et al. 1992b), ont une hémoglobine à la structure particulière ; une partie hétérogène, composée de deux chaînes alpha et deux beta, et une autre de quatre chaînes identiques, ce qui pourrait représenter un avantage fonctionnel important dans les plongées en profondeur (Lincoln et al. 1973). Toutefois, peu d'études s'intéressent aux autres facteurs modulant l'affinité de leur hémoglobine pour l'oxygène, et lorsqu'une étude fonctionnelle est réalisée, elle est généralement centrée sur une seule classe d'âge (Meir et al. 2009), sans prise en compte d'un potentiel effet progressif de l'exposition progressive aux apnées. Une étude sur les phoques de Weddell rapporte une différence d'affinité entre le fœtus et la mère, par l'intermédiaire d'une concentration différente en 2,3-BPG (Qvist et al. 1981). Cependant, aucune étude ne regarde si une différence d'affinité est visible entre le post-sevrage, phase critique du développement des capacités de plongées, et le stade adulte.

Dans cette optique, nous avons initié une étude fonctionnelle de l'hémoglobine des juvéniles et adultes étudiés dans le Chapitre 3, en récupérant les culots sanguins après extraction du plasma. Pour l'instant, seule une étude préliminaire de l'affinité et de l'effet Bohr entre

juvéniles et adultes a été réalisée (Figure 49). La méthodologie employée est décrite dans l'Encadré 7.

**Encadré 7 : méthode d'analyse des capacités de fixation de l'oxygène sur l'hémoglobine
(résultats préliminaires non publié)**

Les courbes illustrant la fixation de l'oxygène sur l'hémoglobine ont été obtenues par la procédure décrite ci-dessous, dans une chambre de diffusion (Sick and Gersonde 1969 ; Weber 1981). Les culots sanguins de quatre adultes et quatre juvéniles ont été décongelé sur glace et dilué au 1/50 avec un Tampon Tris (Tris 25 mM, 100 mM NaCl, pH 7,5). Les dilutions ont été centrifugées à 13,300 rpm pendant 1 min at 4°C pour séparer les composants cellulaires du surnageant contenant l'hémoglobine. Le pH de chaque dilution a été ensuite ajusté en ajoutant 5 µL d'une solution tampon (Tris 1 M à pH 6,5, 7 et 7,5) à 25 µL du surnageant pour mesure de l'effet Bohr en 3 points.

5 µL de chaque solution a été équilibrée avec de l'azote (état désoxygéné) et de l'oxygène (saturation complète) à 36,5°C (Little 2006).

Un mélange de ces gaz a été rajouté progressivement avec un multigas controller MKS 647C (Instruments Deutschland), et les variations d'absorption résultantes ont été mesurées à 430 nm par spectrophotométrie (Ocean Optics).

Les données de saturation (S) ont été linéarisées en fonction de la P_{O2} (pression partielle en oxygène) par l'équation de Hill, $\log(S/(1-S)) = f(\log(P_{O_2}))$, et les valeurs de la P₅₀ (P_{O2} at à laquelle 50% de l'hémoglobine est saturée en oxygène, indice de l'affinité) a été dérivée de la régression linéaire sur les points entre 30 and 70% de saturation. Le facteur de Bohr (Φ) a été calculé comme $\Phi = \Delta \log P_{50} / \Delta pH$.

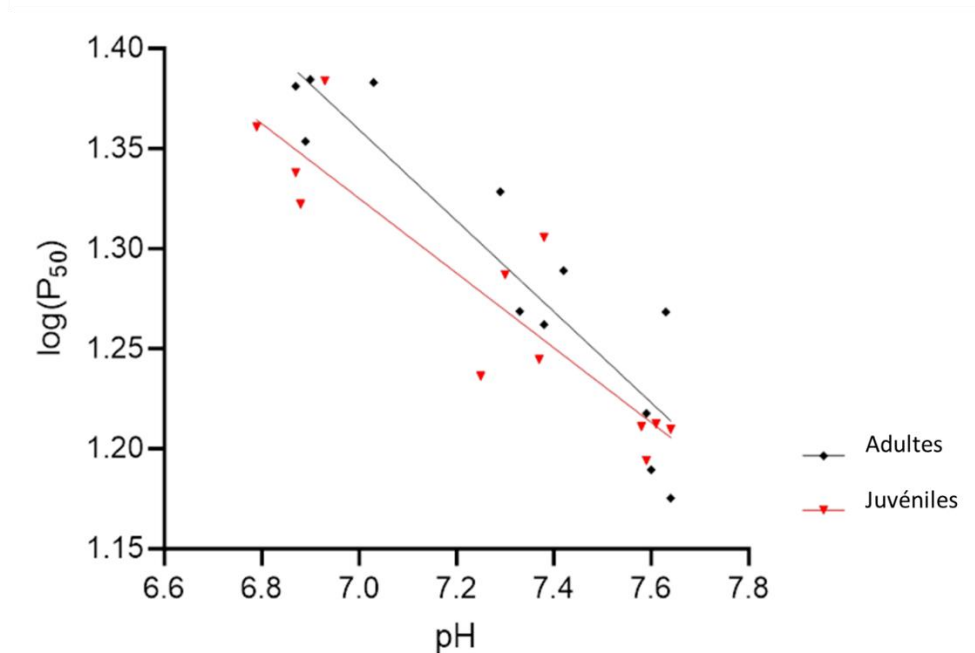


Figure 49 : mesure de l'effet Bohr du sang de femelles juvéniles (N = 4) et adultes (N = 4) éléphant de mer du sud à 36,5 °C. Données non publiées

Les équations de régression calculées sont $\log(P_{50}) = -0,19 * pH + 2,63$ pour les juvéniles ($R^2 = 0,83$), et $\log(P_{50}) = -0,23 * pH + 2,95$ pour les adultes ($R^2 = 0,84$). L'affinité moyenne de l'hémoglobine à pH = 7,3 – 7,4 est de 18,6 ± 1,4 mmHg pour les juvéniles et 19,4 ± 1,4 mmHg chez les adultes. Données préliminaires non publiées, graphe et analyses par Maïly Khervella.

La P₅₀ que nous mesurons est de 18,6 ± 1,4 mmHg pour les juvéniles et 19,4 ± 1,4 mmHg chez les adultes, soit inférieure à celle déterminée chez des jeunes éléphants de mer du sud (30,5 ± 1,2 mmHg, N = 11, 1 à 3 ans, sexe non précisé). Cela signifierait une affinité plus grande chez nos animaux comparée à ceux de l'étude précédente (Meir et al. 2009). Dans cette étude, les analyses avaient été réalisées sur sang frais, conservé sur glace, moins de six heures après la collecte. Dans notre cas, les culots sanguins ont été séparés moins d'une heure après collecte et stockés à -80°C avant analyse. Le processus de congélation et décongélation peut altérer la structure de l'hémoglobine, qui est déterminante dans l'affinité avec l'oxygène et pourrait être à l'origine de cette différence. Enfin, cette étude a été réalisée chez les éléphants de mer du nord, qui plongent un peu moins profondément et moins longtemps que les éléphants de mer du sud (Hindell et al. 1991 ; Le Boeuf et al. 1993), ce qui pourrait expliquer une différence dans les résultats des deux analyses.

Nous ne notons pas de différence de l'affinité de l'hémoglobine entre les juvéniles et les adultes ($P_{50} = 18,6 \pm 1,4$ mmHg pour les juvéniles et $19,4 \pm 1,4$ mmHg pour les adultes). Chez les Phoques de Weddell, aucune différence n'avait été notée entre le fœtus et la mère (Qvist et al. 1981), les auteurs concluant alors que la différence d'affinité n'était pas liée directement à la structure de l'hémoglobine en elle-même, mais à la quantité d'autres facteurs dans les globules rouges, dont le 2,3 BPG (qui était trois fois plus concentré dans les érythrocytes des adultes). Une affinité plus forte de l'hémoglobine du fœtus permettrait de maintenir une perfusion en oxygène même lorsque la mère est en plongée et exposée à une faible pression partielle en oxygène (Kooyman 1966 ; Elsner et al. 1969 ; Bartels and Baumann 1977). L'augmentation progressive en 2,3-BPG et la diminution de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène est rapide pendant les premières semaines après la naissance, et terminés au moment où le juvénile passe d'un mode de vie terrestre à aquatique (Qvist et al. 1981). Par conséquent, si pour l'instant aucun effet n'est remarqué sur l'hémoglobine isolée dans notre analyse, l'étude *in vivo* de l'affinité et de l'évolution de la teneur des globules rouges en 2,3-BPG au cours du post-sevrage serait intéressante.

c. Perspectives sur la récurrence des phases en émergence et des stress physiologiques

Considérant l'importance de la première phase à terre des éléphants de mer du sud, le post-sevrage, dans la stimulation des adaptations aux contraintes expérimentées plus tard, la question se pose pour la récurrence de ces phases à terre. Les défis pendant ces phases à terre représentent-ils une contrainte évolutive pour des événements émergés « obligés » ? Ou les stress physiologiques peuvent-ils, même à un stade de vie où les adaptations sont en place, agir comme un conditionnement pour la phase suivante ?

Dans le Chapitre 3, nous avons comparé les juvéniles avec les femelles en lactation. Nous avons montré un métabolisme lipidique diminué par rapport aux juvéniles, mais il est difficile d'interpréter entre ce qui est relié à l'activité des juvéniles ou à la lactation des adultes. Une autre étude sur les éléphants de mer du nord rapporte les changements protéiques musculaires pendant la mue (Wright et al. 2020) et nous permet de discuter nos résultats.

Dans cette étude, les auteurs rapportent que le métabolisme lipidique est augmenté par rapport au métabolisme glucidique, ce qui est cohérent avec les réserves corporelles de ces

animaux. Il est donc probable que les différences dans les voies métaboliques lipidiques observées dans notre étude soient plutôt liées à une stimulation importante chez les juvéniles, qu'une diminution chez les femelles en lactation, dont la demande énergétique reste très importante. Aussi, nous mettons en évidence une activation plus importante chez les femelles adultes de la voie HIF, facteur de transcription impliqué dans la réponse adaptative à l'hypoxie. Nous avons conclu à une stimulation plus importante suite à l'exposition aux apnées par rapport aux juvéniles. Cependant, pendant la mue, les auteurs rapportent une diminution de la voie HIF par rapport au moment de l'émersion, chose que nous ne pouvions pas observer avec une seule mesure, alors qu'une augmentation est habituellement décrite pendant le post-sevrage (Soñanez-Organis et al. 2013). Si l'augmentation progressive est facilement justifiable par l'inexpérience et la naïveté des juvéniles aux plongées extrêmes, une diminution chez les adultes est plus difficilement appréhendable. Les auteurs suggèrent qu'une transition d'un mode de vie aquatique et très actif à un mode de vie inactif et terrestre justifierait cette diminution. Aussi, il est connu que la voie HIF inhibe le métabolisme lipidique en faveur du glucidique. Une diminution de cette voie HIF faciliterait probablement le catabolisme lipidique pendant cette période coûteuse (Kim et al. 2006). Cependant, une diminution de la voie HIF pourrait représenter un désavantage au moment du retour en mer après la mue. On pourrait alors envisager les mises à l'eau que nous rapportons dans le Chapitre 1 comme une exposition potentielle à des plongées et apnées réduites (pas plus de 50 m de profondeur, sur quelques kilomètres, pendant 10 à 15 minutes seulement), qui pourraient contribuer à restimuler la voie HIF avant le grand voyage suivant. Aussi, lorsqu'ils sont à terre et qu'ils dorment, les éléphants de mer passent 60% de leur temps en apnée (Blackwell and Le Boeuf 1993). Ces apnées terrestres pourraient également représenter un stress physiologique nécessaire à la stimulation de la voie HIF, bien qu'étant émergé, et déjà été exposé à l'hypoxie.

Enfin, dans notre étude du Chapitre 3, nous montrons une activation de la voie de réponse à l'hypothermie chez les femelles adultes, contrairement aux juvéniles (RBM3 notamment). Nous avons discuté de cette activation comme une adaptation potentielle à l'inactivité, permettant de préserver les muscles du stress oxydant (Sakurai et al. 2013 ; Xia et al. 2013 ; Yang et al. 2017). Cette voie peut être stimulée par l'intermédiaire de différents stress physiologiques, dont le jeûne, comme décrit en Figure 48. Pendant la mue, il a été montré une augmentation de la voie PGC-1 α par rapport au début de l'événement, pouvant être stimulée

par le jeûne, ce qui permettrait la protection musculaire en favorisant le métabolisme lipidique, métabolisme des fibres oxydative en l'absence d'exercice (Cotton 2016 ; Wright et al. 2020). Dans notre étude, la voie PGC-1 α était augmentée chez les juvéniles, et nous avons plutôt relié ce résultat à l'augmentation de l'activité physique et de la demande énergétique, avec un effet sur la biogenèse mitochondriale, le transport d'acide gras, l'angiogenèse (Baar et al. 2003 ; Tadaishi et al. 2011). Cependant, une augmentation importante chez les juvéniles a pu masquer une augmentation chez nos adultes inactifs en émergence comparé à leur phase aquatique, non observable encore une fois à cause du point unique de mesure. Il semble alors que le jeûne, en plus de l'activité ou l'inactivité physique, stimule des voies de réponse à tout moment du cycle, à effet bénéfique court et/ou long terme. Ainsi, les stress répétés des phases à terre ne représentent pas uniquement un coût ou un fardeau évolutif, mais aussi des éléments essentiels dans la réponse aux contraintes de l'événement en émergence.

IV. Perspectives d'études long terme de la variabilité individuelle dans l'expression des adaptations

A. Effet à long terme des conditions de début de vie sur les adaptations exprimées

La mise en évidence d'une grande variabilité de comportements selon l'environnement et / ou de la condition corporelle des éléphants de mer du sud, quel que soit le stade de vie, questionne l'origine et les conséquences à long terme de cette variabilité. En effet, nous n'expliquons pas l'intégralité de la variabilité individuelle par les paramètres environnementaux ou physiologiques au moment de l'événement. Par exemple, pour les femelles en mue, nous n'expliquons pas pourquoi certaines ne vont pas du tout en mer pendant le suivi. Pour les juvéniles, nous ne connaissons pas les conséquences d'une moins bonne condition corporelle au sevrage ou du temps réduit passé à terre sur le premier voyage en mer, ni sur les prochaines périodes à terre. Pourtant, au regard de ce travail, la quantité de réserves au sevrage semble jouer un rôle déterminant dans les adaptations physiologiques et comportementales exprimées par les animaux. Il serait donc intéressant de connaître un peu

plus l'origine de cette variabilité chez les éléphants de mer du sud, et les conséquences sur les adaptations à court et long terme.

a. Effet des contraintes précoces sur la condition des juvéniles

Dans notre étude (Chapitres 2 et 3) et dans celles portant sur d'autres populations d'éléphants de mer du sud, on remarque une grande variabilité de la condition des juvéniles au moment du sevrage (Carlini et al. 2000, 2001). Chez les Phocidés en général, dont les éléphants de mer du sud, la masse et la taille au sevrage sont des paramètres influencés par les performances maternelles, comme la durée de la lactation, dépendante de ses propres réserves corporelles, mais aussi sous influence de l'âge et de la taille de la mère (Kovacs and Lavigne 1986 ; McCann et al. 1989 ; Arnbohm et al. 1993b, 1997 ; Fedak et al. 1996). Les juvéniles peuvent alors entamer le post-sevrage avec un désavantage hérité de leur mère. En remontant plus loin encore, la lactation dépendant des réserves maternelles, on peut supposer un effet des conditions rencontrées par la mère sur la condition physiologique du juvénile (taille, masse, réserves). Des mauvaises conditions environnementales limitant le succès de chasse et la constitution des réserves par exemple pourraient indirectement affecter le juvénile. Chez les phoques de Weddell, il a déjà été montré que les variations de la disponibilité alimentaire induites par l'environnement se traduisaient par des différences de masse corporelle des mères, et donc de l'investissement énergétique dans la lactation, affectant la masse au sevrage des juvéniles (Wheatley et al. 2006). Plus largement dans le règne animal, on recense des effets des conditions expérimentées par la mère sur la condition de la progéniture au stade adulte cette fois. Par exemple, chez les éléphants d'Afrique, les mères ayant fait face à d'importantes sécheresses produisent une descendance dont la taille à l'âge adulte est réduite, ce qui se traduit par une reproduction plus tardive pour ces individus (Lee et al. 2013).

Les performances de la mère ne sont pas les seules choses pouvant impacter la condition des juvéniles. Chez les Pinnipèdes, le mode de reproduction sous forme de harem, c'est-à-dire impliquant une forte densité d'animaux à un endroit et à un moment donné, peut également avoir des conséquences sur la condition des jeunes au sevrage. Chez l'otarie à fourrure subantarctique (*Arctocephalus tropicalis*), il a été montré que la densité de population

influençait la taille des jeunes au sevrage, la croissance et la prise de masse des juvéniles étant plus lentes dans le cas d'une densité de population élevée (Pacoureau et al. 2017). A notre connaissance, aucune étude sur l'environnement de la mère et des conséquences sur l'état du jeune au sevrage n'a été réalisée chez l'éléphant de mer du sud. Pourtant, au regard des différences de condition au sevrage et des conséquences sur l'ontogenèse des futures adaptations à la plongée, et de l'effet sur les comportements exprimés, il serait intéressant d'en savoir plus sur les différents facteurs héréditaires, environnementaux ou maternels, et comment ils contribuent à cette variabilité observée.

Ainsi, il apparaît que les conditions expérimentées même avant la naissance des jeunes peuvent impacter leur condition à la naissance, au sevrage, et tout au long de leur vie. Dans notre travail, nous n'avons pas pris en compte les caractéristiques maternelles, inconnues pour les juvéniles du Chapitre 3 notamment. Cependant, une mesure à distance de la mère par télémétrie au moment de la naissance et de l'identification du jeune est possible, et permettrait d'inclure dans les analyses *a minima* la taille, et donc un proxy de l'âge de la mère. Un suivi des femelles sur plusieurs années permettrait également d'observer les effets des variations des conditions maternelles sur la condition physiologique du jeune à la naissance et au sevrage.

b. Effet sur les adaptations exprimées plus tardivement

L'idée selon laquelle les conditions expérimentées en début de vie conditionneraient les réponses des individus au stade adulte a déjà été mentionnée dans ce manuscrit (Encadré 2). Il s'agit du concept de la réponse adaptative prédite, ou « predictive adaptive response » (Gluckman et al. 2005a). Chez certains Pinnipèdes, cet effet a déjà été observé, du moins un effet des conditions précoces sur le comportement au sevrage et le développement de comportements de protection contre les prédateurs. Par exemple, une étude rapporte que les mouvements de jeunes otaries à fourrure subantarctiques sont différents selon l'activité des jeunes au sevrage, elle-même corrélée à la densité de population. Dans cette étude, les juvéniles issus de petites colonies sont plus actifs pendant le sevrage, et se déplacent plus rapidement dans des zones protégées des prédateurs et des intempéries, indépendamment de leur masse et taille au sevrage (Nagel et al. 2021). L'hypothèse derrière cet effet serait

qu'une densité plus faible d'animaux limiterait la pression des conspécifiques sur l'expression du répertoire comportemental. Cette pression des congénères et l'expression ou non de l'entièreté du répertoire aurait plus d'effet que la condition physiologique ; de nombreuses autres études sur différents Pinnipèdes suggèrent un effet majeur des conditions de début de vie sur le choix d'habitat au stade adulte par exemple, plus que la masse ou la taille des animaux (Leung et al. 2014 ; Bishop et al. 2018 ; Zeppelin et al. 2019 ; Carter et al. 2020). Chez les éléphants de mer du sud, le lien entre la condition corporelle et le comportement de plongée lors du premier voyage, ainsi que la survie, a déjà été mis en évidence (Orgeret et al. 2019a), mais il manque une étude plus poussée des conditions de début de vie sur le comportement lors du premier voyage. Aussi, une étude de l'effet à plus long terme sur les voyages suivants, et les périodes d'émersion suivantes, manque également.

Selon les hypothèses de la « predictive adaptive response » (Gluckman et al. 2005a), et au regard de la récurrence de phases à terre dans le cycle des éléphants de mer du sud, et de la répétition potentielle des contraintes environnementales et physiologiques, les conditions de vie auxquelles sont exposés les juvéniles pendant le post-sevrage pourraient influencer leurs réponses aux contraintes rencontrées plus tard. Par exemple, il est possible qu'évoluer dans un environnement similaire, et donc face à des contraintes similaires, au stade juvénile puis adulte, représente un avantage (Monaghan 2008). Dans le cas des éléphants de mer du sud, il serait possible qu'un juvénile ayant déjà exprimé un répertoire d'adaptations plus large en raison de mauvaises conditions environnementales au sevrage serait plus réactif dans le cas de contraintes similaires lors des prochaines émergences, et minimiser l'effet sur sa condition au départ du voyage suivant, donc, à terme, son succès de chasse, et sa survie. D'un autre côté, les contraintes expérimentées en début de vie et les réponses compensatoires mises en place (dans notre cas, une intensification de l'activité physique et des mises à l'eau) représentent un coût. Dans le cas d'un déficit nutritionnel pendant le développement particulièrement, des individus peuvent présenter un développement accéléré ou toute autre réponse palliant à ce manque, avec un effet bénéfique immédiat, mais un prix à payer plus tardivement (Metcalfé and Monaghan 2001 ; Jonsson and Jonsson 2014). Les jeunes éléphants de mer du sud sont en déficit nutritionnel dans la mesure où ils dépendent uniquement de leurs réserves, mais ceux en meilleure condition ne subissent pas le même stress physiologique, et ne présentent pas ce comportement compensatoire que nous décrivons dans le Chapitre 2. Dans ce cas, cette compensation représenterait finalement un coût à long

terme, comme une maturité sexuelle et reproduction plus tardive, un raccourcissement précoce des télomères, ou encore des risques de maladies cardio-vasculaires plus élevés, comme rapporté chez l'Homme (pour une revue, voir Metcalfe and Monaghan, 2001).

L'effet long terme des conditions rencontrées en début de vie, de l'environnement et des performances maternelles aux premières contraintes vécues, reste un mystère en l'absence de suivi longitudinal. Compte tenu du cycle des éléphants de mer du sud, de la récurrence des contraintes rencontrées tout au long de leur vie, et ce dès la naissance, il serait extrêmement intéressant de mettre en place ces suivis à plus long terme, pour déterminer si la plasticité en début de vie représente un avantage sur le long terme, ou au contraire, un bénéfice précoce dont il faut payer le prix plus tardivement.

Pour aller encore plus loin, certains effets transgénérationnels d'un déficit calorique précoce ont été rapportés chez l'Homme (Painter et al. 2008 ; Rickard et al. 2012). La longévité et la difficulté de suivi à long terme des éléphants de mer du sud rend cette perspective difficile à réaliser, mais l'idée de transmission aux futures générations d'un avantage ou d'un fardeau évolutif reste très intéressante.

A l'issue de cette partie, il semble que l'étude du conditionnement des éléphants de mer du sud en début de vie puisse effectivement influencer leur aptitude à réagir aux contraintes plus tard au cours de leur vie. Comprendre mieux les effets de ces conditions initiales sur le répertoire des adaptations permettrait probablement de mieux expliquer la variabilité observée au stade adulte, à l'échelle locale (musculaire) mais également du corps entier.

B. Phénologie des périodes en émergence et effet sur l'événement suivant

Les éléphants de mer du sud présentent un cycle où se succèdent les périodes prolongées en mer et les périodes à terre, pour la reproduction et pour la mue, comme illustré précédemment en Figure 18 (rappelée ci-dessous). L'investissement énergétique dans l'événement à terre, sa durée, et le succès de chasse jouent sur la condition corporelle et sur l'occurrence de l'événement suivant. Dans cette étude, nous avons seulement pu observer des événements isolés, alors que l'interdépendance de ceux-ci, et les conséquences des compromis mis en place pendant ces événements, sont des éléments qui auraient été intéressants à étudier sur une année voire plusieurs.

Nous avons tout d'abord discuté en II. de l'existence de deux stratégies lors des émerSIONS : d'un côté réduire le temps passé à terre quitte à augmenter la dépense énergétique, et de l'autre, rallonger le temps à terre mais avec un métabolisme réduit, et une dépense énergétique quotidienne plus faible (II. B). Ces deux stratégies ont été observées entre deux espèces de Phocidés pendant la mue (Thometz et al. 2021), et si nos observations dans les Chapitres 1 et 2 soulèvent cette idée pour la mue et le post-sevrage, cette variabilité n'a pas été observée au sein d'une seule espèce. Cependant, les implications d'un départ précoce ou tardif en mer sont intéressantes. En effet, pour un juvénile comme pour un adulte, un départ plus tôt pourrait permettre d'allonger le temps de recherche alimentaire avant la prochaine phase d'émerSION, donc assurer une meilleure condition pour réaliser l'événement suivant, mais aussi peut-être de maximiser l'efficacité de recherche alimentaire et le succès de chasse, en limitant la compétition avec des congénères. Pour les juvéniles particulièrement, qui partent en mer généralement en groupe. On peut supposer que des jeunes en meilleur état corporel auraient un succès de chasse plus important que ceux en moins bonne condition, qui verraient leurs chances de survie diminuer d'autant plus. En partant plus tôt, cet effet pourrait être limité.

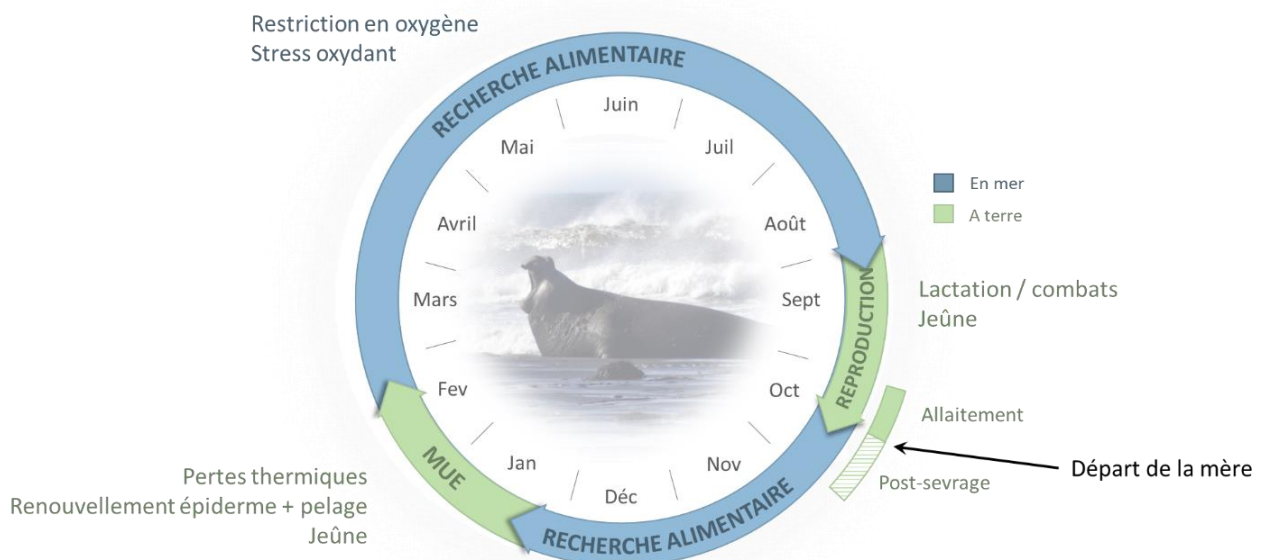


Figure 18 : cycle de vie d'un éléphant de mer du sud adulte mâle ou femelle

Alternance de phases à terre (vert) et en mer (bleu) et contraintes associées chez un adulte éléphant de mer du sud.

Concernant les femelles reproductrices, une bonne condition corporelle est déterminante dans le succès reproducteur (Guinet et al. 1998). En effet, il est connu que certaines femelles ne se

reproduisent pas en cas de mauvaises conditions environnementales et de mauvaise condition corporelle. On peut donc supposer qu'un départ en bonne condition corporelle, ou plus précoce, permettant plus de temps pour la restauration des réserves, impacterait directement le succès reproducteur suivant. Cependant, une étude récente sur la phénologie de la mue et les facteurs l'impactant a montré une faible variabilité de celle-ci, qui était surtout corrélée à l'âge (les femelles adultes muaiant plus rapidement que les jeunes) et à l'état reproducteur des femelles (de Kock et al. 2021). Dans la même idée, il a été montré chez cette espèce qu'un succès reproducteur important, associé à un événement de reproduction long, pouvait retarder la mue jusqu'à deux semaines, mais sans effet sur l'événement reproducteur suivant (Beltran et al. 2019). Par conséquent, les éléphants de mer du sud semblent présenter une plasticité importante de leur cycle, permettant d'ajuster la phénologie de la mue sans impacter sur le succès reproducteur à long terme.

Enfin, nous avons mis en évidence une association entre les conditions environnementales et le comportement des femelles pendant la mue et leurs mises à l'eau, et émis l'hypothèse que le contact avec l'eau froide ralentirait le processus et rallongerait le temps émergé. Cependant, des études sur de plus gros effectifs et sur plusieurs années n'ont pas mis en évidence d'effet des facteurs environnementaux sur la phénologie de la mue, ni chez d'autres espèces, comme les phoques gris (Schop et al. 2017 ; Beltran et al. 2019). Il se pourrait alors que cette variabilité comportementale que nous observons pendant la mue soit en réalité compensatoire ou compensée pendant l'événement et/ou le voyage attendant, avant la reproduction suivante, puisqu'aucun effet n'est rapporté sur le succès reproducteur suivant. La question de cette plasticité au sein du cycle de vie et de la phénologie de certaines phases par rapport à d'autres, mêlée aux compromis énergétiques immédiats et à long terme, reste difficilement étudiable en raison de la difficulté d'obtention de données longitudinales à long terme chez cette espèce. Cependant, cette plasticité de réponse ponctuelle et à long terme, au moins sur un cycle d'un an, représenterait un avantage considérable dans la gestion des événements et environnements extrêmes et pourraient contribuer au succès évolutif de ces animaux en dépit des défis récurrents rencontrés tout au long de leur vie.

Essentiel 6 : forces et limites de l'étude

Forces

- Suivi comportemental sur des périodes à terre coûteuses et mise en évidence avec quantification des comportements de mise à l'eau à différents stades de vie
- Prise en compte des paramètres environnementaux dans les comportements à terre à différents stades de vie, indispensable dans le contexte de changements climatiques et de l'exposition à un milieu moins tamponné que le milieu marin
- Etude du post-sevrage sur différentes échelles (comportementale, Chapitre 2) et physiologique globale (condition corporelle, Chapitre 2) et cellulaire (muscle de nage, Chapitre 3)

Limites

- Echantillonnage réduit (Réserve Naturelle et espèce protégée), et de femelles uniquement (anesthésie et homogénéité d'un effectif réduit)
- Suivi ponctuel et d'animaux différents bien que sur une même période de vie, alors qu'une étude comportementale et plusieurs prélèvements auraient été pertinents pour lier les Chapitres 2 et 3
- Impossibilité de mesurer le métabolisme général des animaux ce qui aurait permis de lier adaptations locales et systémiques

V. Conclusion

La Figure 46 récapitule les liens entre les différents facteurs physiologiques et environnementaux retrouvés dans ce travail de thèse, ainsi que les implications à l'échelle du cycle d'un individu. La condition corporelle, trait d'histoire de vie central chez les Phocidés, apparaît ici au centre des compromis énergétiques, à la fois moteur et cible des adaptations physiologiques et comportementales exprimées par les éléphants de mer du sud. Bien que ce travail concerne des périodes ponctuelles et isolées de leur cycle de vie, la variabilité individuelle dans l'expression de ces adaptations que nous soulignons questionne à la fois l'origine et les implications à court et long terme pour cette espèce, et comment cela contribue à sa capacité à évoluer dans des milieux que nous qualifions d'extrêmes, tout en réalisant des événements extrêmes. La prise en compte des paramètres environnementaux et la mise en évidence d'une réponse à un potentiel stress thermique à différents stades de vie est d'intérêt primordial dans un contexte de changement climatique, tout comme de futures études sur les implications de ces comportements décrits et comment ils pourraient impacter, à terme, la survie de cette espèce protégée.

En commençant cette étude, nous avons d'abord considéré les plongées comme la partie la plus impressionnante et contraignante du cycle des éléphants de mer du sud, et cherché à comprendre la mise en place de telles adaptations tout au long de leur vie. Au fur et à mesure, après bilan des contraintes, chaque partie du cycle est apparue comme un défi, en raison de l'environnement difficile et des compromis, à terre (énergétiques) comme en mer (hypoxie, stress oxydant). Ensuite, les phases à terre se sont révélées être encore plus contraignantes au regard des contraintes environnementales supplémentaires, énergétiques, et de l'enjeu de la condition corporelle sur la période en mer suivante. Finalement, après avoir discuté des implications long terme et évolutive des périodes à terre, nous les envisageons désormais comme les périodes déterminantes dans la mise en place des adaptations et l'aptitude de ces animaux à faire face à ce genre de milieux. Par conséquent, il semble aussi important de considérer les phases à terre dans les grands défis de ces mammifères marins, même si elles représentent seulement 20 à 30% de leur cycle reproducteur annuel. Finalement, il semblerait que le plus contraignant, contrairement à ce qu'on envisage de premier abord, ce ne soit pas de plonger en apnée pendant plusieurs heures à plusieurs centaines de mètres, mais plutôt comment mener de front la préparation de ces plongées et

les événements coûteux dans un milieu contraignant, sans impacter sa survie et sa reproduction. Certains diront qu'à terre ils sont ridicules, posés à ne rien faire. Pourtant, il s'agit probablement des phases les plus impressionnantes et importantes de leur vie !

ANNEXES



I. Annexe 1 : Plasticity to balance immaturity?: the role of phenotypic plasticity to survive a changing period and environment in juveniles

Laura Magaly Charlanne¹, Caroline Gilbert^{2,3}, Sylvain Giroud^{4,5}

¹Université de Strasbourg, CNRS, IPHC UMR 7178, F-67000 Strasbourg, France

²UMR 7179, CNRS/MNHN, Laboratoire MECADEV, 1 avenue du petit château, 91400, Brunoy, France

³Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du Général de Gaulle, 94704 Maisons-Alfort, France

⁴Energetics Lab, Department of Biology, Northern Michigan University, Marquette, United States

⁵Research Institute of Wildlife Ecology, Department of Interdisciplinary Life Sciences, University of Veterinary Medicine Vienna, Vienna, Austria

In prep, *Biological Review*

Abstract

Because of limited energy availability in changing environments, organisms have to optimize the allocation of available energy between reproduction, growth and survival, in order to maximize their fitness. Now days, periods providing harsh living conditions tends to be longer, having drastic consequences on the fitness of individuals. For juvenile birds and mammals, surviving such periods of food shortage constitute a real challenge as they are vulnerable individuals, threatened by major heat loss and inexperience in foraging. On the other hand, their survival and reproduction are key factors in population dynamics, i.e. sustainability of species. Here we aim at showing to what extent phenotypic flexibility appears to be the solution allowing vulnerable individuals to hold their major role in population dynamics, despite fluctuating environmental constraints. In particular, phenotypic plasticity of juveniles can be reached through the development of compensatory responses during growth, and/or the use of energy-saving strategies, such as hypometabolism, including torpor, and social thermoregulation, also known as 'huddling'. These strategies would allow juveniles to adapt their growth and development depending on the ecological constraints they face, and to maximize their survival and their future reproductive success, hence their fitness.

A. Introduction

Because of limited energy availability in the environment, organisms have to optimize the allocation of available energy to the different life-history traits, such as reproduction, growth and survival in order to maximize their fitness. In environments with periods of limited food resources, animals are constraint to realize such trade-offs of energy allocation. Now days, climate changes trigger longer periods of harsh environmental conditions, and increase the duration and intensity of unpredictable events, such as El Niño phenomenon, associated with periods of food shortage (Easterling et al. 2000; Stenseth et al. 2002; Mitchell et al. 2006). In this context, the need to cope with such challenging conditions highlights the importance of phenotypic plasticity of organisms to survive and to maximize fitness despite increasing environmental constraints.

Such periods of harsh living conditions are challenging for birds and mammals. Surviving prolonged periods of food shortage requires a good body condition and low vulnerability;

abilities that are difficult to acquire, especially for juveniles (Armitage et al. 1976; Murie and Boag 1984; Clobert et al. 1990; Lenihan and Vuren 1996; Ringsby et al. 1998; Stumpfel et al. 2017; Mahlert et al. 2018). The gap between the importance of new offspring in population dynamics, i.e. sustainability of species and population size, and the challenges young individuals have to face to successfully reproduce makes this topic particularly interesting to study. Indeed, it points toward the importance of a flexible modulation of energy expenditure, for juveniles more than adults, to survive through a remarkable phenotypic plasticity, or ‘the ability of individual genotypes to produce different phenotypes when exposed to different environmental conditions’ (Pigliucci et al. 2006).

Among different responses to survive a fluctuating or seasonal environment, we can distinguish the migration behavior, allowing species to avoid disturbances, from specific physiological and behavioral adaptations that confers animals to locally cope with ecological constraints (Yahner 2012). Both strategies allow individuals to overcome a recurrent event in a fluctuating environment, but also require an important preparatory phase to establish adequate physiological settings and accumulate sufficient energy storage (Dark 2005; Mahlert et al. 2018). The development of compensatory responses – such as during growth and maturation – and the use of energy-saving strategies appear therefore crucial for juveniles to ensure their survival and future reproduction, as well as the sustainability of the animal species.

Studying the phenotypic plasticity of physiological and behavioral adaptive responses, their implications later in life, and how such flexibility allows juveniles to successfully face environmental constraints therefore seems essential. In this review, we aim at understanding which physiological or behavioral adaptations help juveniles to cope with the challenges they face early in life. Especially, we identify how phenotypic plasticity is critical in allowing young individuals to deal with several tradeoffs between energy saving, growth, and physiological maturation. We end the review by discussing the importance of early-life conditions not only in the expression of immediate response but also in conditioning how individuals will respond to other challenges later in life.

B. Juveniles is a key but challenging stage of life

a. Juveniles ensure sustainability of species by surviving and reproducing

In population dynamic, one of the fundamental processes ensuring sustainability of species is the addition of new individuals to populations. This process, also known as 'recruitment', includes three main stages, which are i) the production of offspring, ii) their survival, and iii) their settlement (Clobert et al. 1990; Ringsby et al. 1998; Oli and Dobson 1999; Gaillard et al. 2000). A low recruitment, triggered by a high mortality of juveniles and/or a settlement failure - a low reproductive success - can induce a decrease in population size and lead to species extinctions (Oli and Dobson 2003).

In small mammals, the reproduction of juveniles (i.e. the first reproduction of young individuals) is essential as it represents the next generation and the sustainability of species. Hence, their survival has more impact than the one of adults. The importance of juvenile survival and age at maturity in cyclic fluctuations in population growth rate and size has been demonstrated in several studies (Cole 1954; Dobson 1995; Oli and Dobson 1999). More precisely, changes in age at maturity are supposed to be the major mechanism of variations in population cycles - also known as the α -hypothesis (Oli and Dobson 2001). Hence, considering short-lived species, fecundity is supposed to have the greatest effect on population growth rate compared to survival of adults (Oli and Dobson 2001). A low pup and juvenile survival, in addition to reproductive failures, is associated with a low population growth rate (Oli and Dobson 2003). The model proposed by Oli and Dobson (1999) reveals that, among juvenile and adult survival, change in age at maturity and fertility appears to be the most influent demographic parameter impacting on population cycles.

In large mammals, such as diving mammals, the effect is more balanced. For instance, growth rate of the Atlantic grey seal population is more influenced by the survival of reproductive individuals than the one of juvenile (Harwood and Prime 1978). The same was reported for the southern elephant seal population of Marion Island (Pistorius and Bester 2002) and the northern elephant seal population (Condit et al. 2014). However, juvenile survival and fertility can indirectly affect population growth rates. The ability of juveniles to reproduce more or less early is strongly related to their growth and maturity which depend on resource availability. One study on the common seal shows that an increase in the competition for

resources and predation on juveniles reduces their survival and fecundity, leading to an increase in the age of the breeding class of females. This means a reduction in the recruitment of young as breeding stock. This was correlated with the decline in the common seal population between 1992-1996. Therefore, if juvenile survival does not directly affect the rate of population growth, it influences age class structuring and may have a longer-term regulatory effect (Don Bowen et al. 2003; Fath 2018).

In addition to the direct demographic contribution of this age group, conditions encountered during the juvenile period are often determinants in the expression of life history traits between individuals, which may have repercussions on population dynamics (Albon et al. 1987; Lindström 1999; Monaghan 2008). This effect may indeed be even more important in poor environmental conditions, depending on whether the organism has already been exposed to early stress or not (Gaillard et al. 2000; Reid et al. 2003).

b. Juvenile period is a vulnerable, hence challenging stage of life

i. Limited survival and parental dependence

The importance of juvenile survival on the sustainability and ability of species to cope with subsequent environmental constraints is extremely contrasted by their high vulnerability. On the one hand, young individuals are threatened by predators in all environments because they are often unable to avoid them or defend themselves. They are also particularly vulnerable to harsh environmental conditions (Geiser et al. 2019). For example, in seasonal environments, extreme temperatures are one of the first challenges that young people face: many new-born mammals and birds. They are naked and unable to produce enough endogenous heat to maintain a constant high body temperature (Dawson and Evans 1960; Morrison 1962). In small mammals, young individuals are partially endothermic at birth until they reach a body mass of about one-third of their adult size. This makes them particularly vulnerable to environmental stressors, due to high heat and energy losses (Geiser et al. 2019). Another drawback of juvenile immaturity is the lack of experience in food-seeking behavior. In many species, such as small mammals and birds, parents provide food for their offspring in the early stages of life, making juveniles dependent and vulnerable to death from starvation if their parents are unable to provide them with sufficient food, such as during periods of food

shortage (Geiser 2008). Also, weaning is characterized by the mother's departure and the cessation of energy supply to young. The juveniles must then be autonomous in their food research. In some species, such as sea elephants or king penguins, juveniles stay on land for a few weeks before their first trip, and then rely on their fat reserves. During this period, they can lose up to 70% of their body mass depending on the duration of post-weaning (Cherel et al. 1987; Carlini et al. 2000, 2001). Once at sea, their diving performance and survival are very dependent on their body condition, therefore on their weaning condition and on the parents' performance.

ii. Ensuring growth, development and maturation

Nevertheless, ensuring their survival is not the only challenge juveniles have to face. Reproduction of young individuals, as a determinant factor in population dynamics, is allowed by a high reproductive success, that requires special attributes. First, individual strength, partially related to size, is important when considering reproductive success. It is known from many species that males form hierarchical groups before reproduction, such as at emergence from hibernation. For instance, in garden dormice, male access to females is reduced for individuals that are too weak or small that are forced to disperse (Vaterlaus-Schlegel 1997). Large juveniles are also characterized by higher survival and earlier age of sexual maturation (Altmann and Alberts 2005), showing the importance of body mass in reproductive success and future fitness.

The processes of growth, development and physiological maturation require a great amount of energy. However, growth rate is highly dependent on energy storage or resource availability (Altmann and Alberts 2005). In small mammals with potential for food research, growth is limited to the period when plant availability and activity overlap (Armitage et al. 1976; Webb 1979). Similar challenges are also described in migratory birds. For example, a decrease in winter resources can trigger growth delays. This can delay spring migration, with drastic consequences on reproductive success, because each day of delay after the first male arrives at the breeding site reduces the chances of successful reproduction (Cooper et al. 2015). In other species where juveniles transition from one environment to another (terrestrial to marine for example), such as sea elephants, the post-weaning period is critical for training and physiological maturation before going to the sea (Modig et al. 1997; Vázquez-Medina et al.

2011c; Piot et al. 2024). This physiological maturation and training are combined with a long fast, making this post-weaning period extremely critical for juveniles.

iii. Extreme events can occur early in life

Sometimes juveniles have to face the constraints than older conspecifics very early in their lives, even before the end of their growth and/or physiological maturity. For example, young hibernating individuals face extreme winter temperatures and lack of resources within months or weeks of birth. Similarly, young elephant seals are released into the sea between three and five weeks after weaning (Modig et al. 1997). Little time is available before the first extreme event or challenge, and ontogenesis of adaptations is not always possible.

Hence, being a juvenile in a fluctuating or seasonal environment appears to be extremely challenging. Juveniles growth and development, preparatory phase and survival to recurrent events, and reproductive success differ both in time and space, as well as in response to a large range of biotic and abiotic factors. In this context, it appears essential to determine the nature of the adaptive strategies of young individuals, and to which extent the phenotypic plasticity of these physiological and behavioral adaptive responses confer sufficient flexibility to juveniles to successfully face environmental constraints.

C. Adaptive strategies for juveniles to survive in seasonal and fluctuating environments

a. Tradeoffs between different physiological functions

i. Variations in growth and developmental rates

As a life-history trait, growth rate is related to various fitness components, including survival, age of first reproduction and fecundity (Altmann and Alberts 2005). Further, growth and developmental rates are not stationary traits; they can be modified in response to environmental changes. For instance, growth can be accelerated, as a compensatory response, when facing a decreasing photoperiod, i.e. shorter day-length, or after a period of low resources availability associated with slow growth.

Enhanced growth or development in response to decreasing photoperiod has been demonstrated in a variety of animal species (Abrams et al. 1996). Several authors have reported such responses of compensatory growth in birds, such as tree swallows (Quinney et al. 1986), cactus wrens (Simons and Martin 1990), great tits (Nager and Van Noordwijk 1995), snow goose goslings (Lepage et al. 1998), as well as in mammals, including olive baboons (Strum 1991), and deer mice (McAdam and Millar 1999). For instance, late-born European hedgehogs gained weight significantly faster than early born individuals leading to better chances of overwinter survival (Bunnell 2009). A similar response was reported in late-born juvenile garden dormice, whose growth and body mass gain during the post-weaning phase were twice as fast as early born individuals, as shown in Figure 50 (Stumpfel et al. 2017; Mahlert et al. 2018). The stimulation of growth and reproduction by long photoperiods (spring and summer) has also been demonstrated. For example, juvenile *Microtus californicus* showed heavier reproductive organs if raised under long photoperiod compared to individuals raised under short photoperiod (Nelson et al. 1983). The response of juveniles to a given photoperiod may also be dependent on the photoperiod present prior to weaning. For instance, in juvenile bank voles, growth was more stimulated when individuals were exposed and raised to both short pre-weaning photoperiod, showing a larger global size and heavier reproductive organs (Horton 1984).

Growth rates is also affected by energy availability in several taxon of animal species. In birds, growth of nestlings is a rapid and flexible process that usually strongly depends on food intake (Starck and Ricklefs 1998). Moreover, several studies suggest that growth compensation may be more widespread among birds than we currently estimate. For instance, 12-16 days old juvenile European shags expressed physiological and morphological responses to short-term food shortage (Moe et al. 2004). These responses include a decrease of metabolic rate by 36.5%, a lower body temperature, and a reduced size of several visceral organs, muscles and lipid stores in food-restricted individuals compared to control fed nestlings. Similarly, substantial compensatory growth has been reported in zebra finch after having experienced a low-quality food during the nestling period (Honarmand et al. 2010).

As energy availability is strongly related to resource abundance, variations in growth rates may be limited by climate change, characterized by an increase in temperature, but also the more frequent occurrence of extreme weather events (Easterling et al. 2000; Mitchell et al. 2006). A decline of compensatory growth was noticed in collared flycatchers (*Ficedula*

albicollis) triggered by climate-related mistimed breeding, possibly leading to lower fitness, in line with the observed decrease in species and populations showing phenological variation under climate change (Leech and Crick 2007; Hegyi et al. 2012).

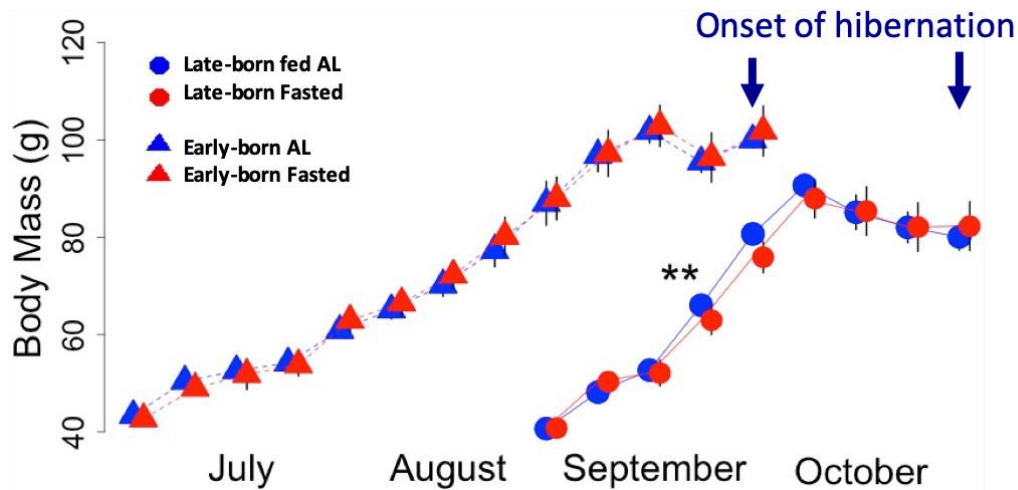


Figure 50: Changes in body mass of early and late-born female juvenile garden dormice

Animals were either fed ad libitum ('AL') or intermittently fasted ('Fasted') from the weaning time until the onset of hibernation. N = 6 individuals per group. Values are means \pm SE (Mahlert et al. 2018).

ii. Tradeoff between conditioning and energy saving

Ensuring growth and reproduction is not the only challenges juvenile have to face. During the early stages of life, animals sometimes do not show the specific adaptations to cope with environmental constraints. For instance, young Phocid seals experience a post-weaning period on land before their first trip at sea (Reiter et al. 1978a; Modig et al. 1997; Noren et al. 2005; Kanatous et al. 2008). This post-weaning period is critical in the development of diving capacities through first exposure to apneas and physical training (Modig et al. 1997; Vázquez-Medina et al. 2011c; Piot et al. 2024). However, physical training is highly energy demanding, especially for juveniles that rely on their fat stores or do not have any experience in foraging yet. Moreover, body condition at weaning differs between individuals according to the performance of parents during the first stage of life. Consequently, the amount of energy individuals can invest in physiological maturation or physical training is limited and very variable. Juvenile southern elephant seals post-weaning period is characterized by a 3-to-5

weeks fast on land before their first trip during which they progressively increase their physical activity (Modig et al. 1997; Piot et al. 2024). Their body condition at departure has a great impact on their behavior and survival during the first at-sea (Orgeret et al. 2019a). However, during the post-weaning period, physical training and at-sea activities are energetically costly but important to promote the development of diving capacities. Consequently, there is a compromise between body condition at departure and physical training on land (Jouma'a et al. 2024). Recent studies show that juvenile southern elephant seals intensify their at-sea activities and physical training when they are in poor condition at weaning (Piot et al. 2024, Charlanne et al. in prep), probably to compensate for the low reserves which do not allow a long post-weaning fast and a gradual training over several weeks. They can either leave early in good body condition but uncomplete diving abilities, or leave later with the risk to die from lower swimming effort and foraging success (Jouma'a et al. 2024).

b. Progressive exposure to the challenges

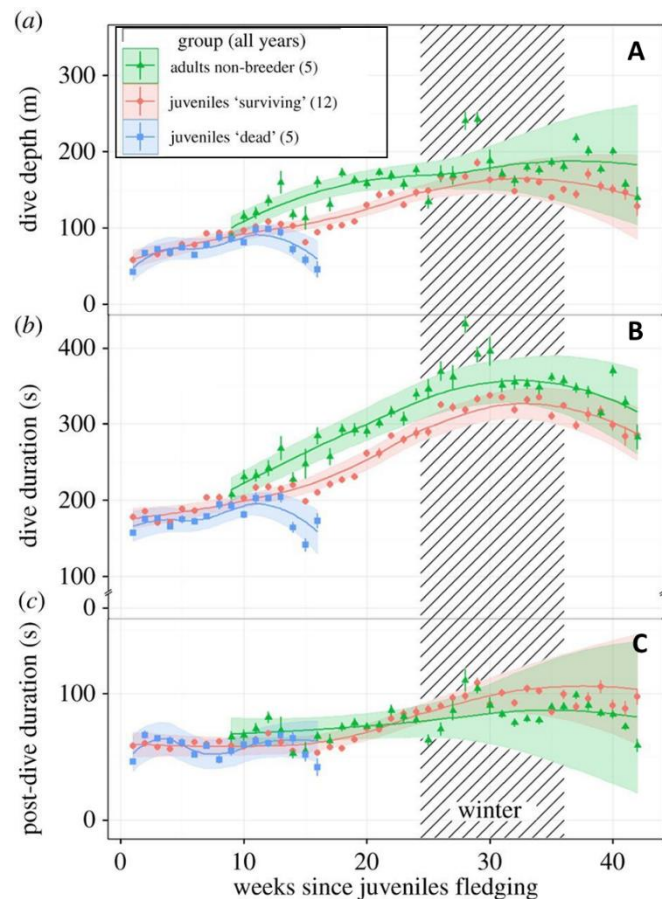
One way to avoid deleterious effect of early-life challenges is to avoid them at the very first stages of life and get ready later. This implies an important preparatory phase early in life, during which organisms can adapt their physiology and behavior to prepare through, for instance, fattening, food storage or optimization of their aerobic capacities, for example, in case of migration or extreme dives (Reiter et al. 1978b; Dark 2005; Noren et al. 2005; Vázquez-Medina et al. 2011c; Mahler et al. 2018).

When the preparatory phase is absent or insufficient for the ontogeny of adaptations or learning foraging behavior, juvenile progressively increase their exposure to stresses adults regularly face. Sometimes this progressive exposure contributes to stimulate the ontogeny of adaptations. For example, young macaroni penguins abruptly transition to the marine environment in cold water, which exposes them to hypothermia as they have very few fat reserves. From then, a progressive cold-acclimation of juveniles followed by the increase of thermogenesis occurs the next hours (Barre and Roussel 1986). Also, in diving birds and mammals, the abilities of juveniles are very different from those of adults. Juveniles have smaller size, lower oxygen stores and lower density which increases their swimming effort and leads to higher metabolic rate (Ponganis 2015). During the first sea trip, shorter and shallower

dives than adults are reported among young emperor and king penguins as well as southern elephant seals. As this first trip proceeds, the depth and duration of dives progressively increase, as shown in Figure 51 (Ponganis et al. 1999; Orgeret et al. 2016, 2019a). The same was reported about the flight performance of young migratory birds, which progressively increases during the first trip, in relation with a progressive muscle hypertrophy and the decrease of the beaten flight to the advantage of gliding (Bishop et al. 1996; Rotics et al. 2016).

Figure 51: Changes in diving parameters during the first sea trip of young King Penguins

Weekly average (\pm SE) of dive depth (A), dive time (B) and post-dive time (C), with adjusted value lines of 2 SE (color ribbon) (Orgeret et al. 2016).



Finally, juvenile that are usually characterized by their lack of experience in food research, hunting behavior or knowledge of resource-rich areas can progressively increase this knowledge by relying on the adults. For instance, at the beginning of their first trip, it was shown that young king penguins follow the adults, allowing them to locate resource-rich areas already identified by the oldest (Orgeret et al. 2019c). Also, in migratory species such as the

white stork, juveniles remain at the back of the group and follow the adults (Mueller et al. 2013; Rotics et al. 2016). This position within the group is believed to reduce the costs of flying by going with the flow and avoiding costly path errors.

c. The use of energy-saving strategies

i. The use of torpor and hypometabolism for juveniles

Among the strategies commonly used by many small birds and mammals to face rarefaction of energy resources, torpor is a highly efficient energy-saving strategy achieved by an active and controlled reduction of individual's metabolic rate, also called hypometabolism, associated with a more or less pronounced decrease of its body temperature as shown in Figure 52 (Heldmaier et al. 2004; Ruf and Geiser 2015). The use of 'daily torpor', i.e. rather shallow bouts of torpor of less than 24 h, is distinguished from the behavior of 'hibernation', i.e. succession of long and deep bouts of torpor lasting for days or weeks. During hibernation, animals reach minimum torpid metabolic rate of $\sim 6\%$ of basal rates, in association with a more or less pronounced reduction of their body temperature ranging on average for most species between 0 and 10°C. During daily torpor, mean minimum torpid metabolic rate is $\sim 35\%$ of basal rates and body temperature usually reaches values between 12 and 25°C during torpor (Ruf and Geiser 2015).

The process of thermogenesis occurring during endothermy, i.e. the maintenance of high body temperature, is a costly mechanism. When energy resources are limited, it becomes difficult to provide enough energy to maintain high body temperature and associated physiological functions, especially for juveniles that have limited amounts of energy stores. Data on the use of torpor during development is limited to only a few species (less than 0.1% of the 15,000 mammals and bird species). Heterothermic responses in juveniles have been reported only in some small marsupials (Geiser 2008; Giroud et al. 2014), a few placental mammals (Nagel 1977), and a few birds (Eichhorn et al. 2011). For instance, in marsupials, first expression of torpor is observed from early stages of life, meaning few months after birth (Geiser et al. 2006, 2017). The use torpor during periods when offspring are particularly vulnerable and subjected to high heat loss and insufficient food supply would provide higher survival rate (Geiser et al. 2019).

The use of torpor is thought to provide many benefits for juveniles, given their high vulnerability to periods of low resource availability in a fluctuating environment. A major proximate benefit of torpor expression is a profound reduction of energy requirements, mostly employed by juveniles during their preparatory phase. By reducing metabolism and energy loss (Geiser and Brigham 2012), torpor enables juveniles to grow and develop, as well as to fatten. For instance, late-born juvenile garden dormice rely on short torpor bouts to save energy and water, promoting accumulation of fat reserves, allowing young individuals to compensate for a late start in the breeding season and survive their first winter in hibernation (Giroud et al. 2014; Mahlert et al. 2018).

Many studies point out torpor as a strategy increasing survival rate under harsh environmental conditions. For instance, torpor is widely used by mammals and birds in arid zone, to face water restriction (Geiser et al. 2006). Free-ranging mouse-lemurs (*Microcebus murinus*) reduce rates of water turnover during torpor in comparison to individuals remaining normothermic (Schmid and Speakman 2009), and evaporative water loss of torpid cactus mice (*Peromyscus eremicus*) is only about 40% of that of normothermic individuals at the same ambient temperature (Macmillen 1965). Hence, many advantages associated with torpor are crucial for juveniles.

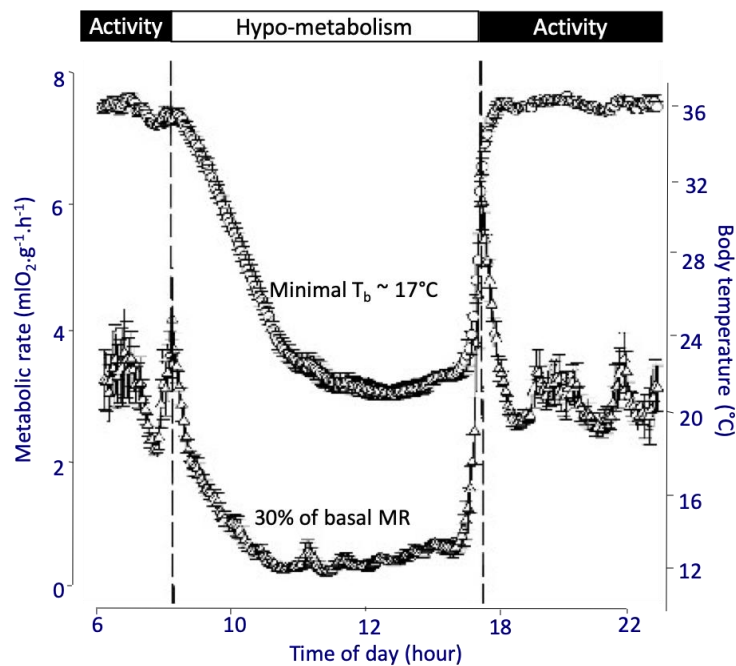


Figure 52: Daily torpor in Siberian hamster (*Phodopus sungorus*).

Mean values of metabolic rate (mIO₂/g/h) and mean values of body temperature (°C) of hamsters during torpor, N =8 individuals. Values are means ±SE (Heldmaier et al. 2004).

Despite great benefits for juveniles provided by torpor, there seems to be a price to pay. First, inactivity required by this strategy, coupled with a limited sensory capacity, are one of the major costs, as individuals remain during that time even more vulnerable to predation (Humphries et al. 2003). Several minutes to few hours are needed for rewarming before animals are able to show coordinated movements, often leading to fatal consequences when emergency arousal is required in case of direct predation (Choi et al. 1998). This can also be extended to pathogens and diseases, as the hypometabolic state of torpor is associated with a suppression of the immune function. For example, torpor has been pointed as a determinant factor in the decimation of hibernating bats by the white nose syndrome (Storm and Boyles 2011). The main reason for bats to die when infected lies in the necessity for the individuals to rewarm more frequently from torpor in order to fight against the pathogen. The higher arousal frequency leads the energy reserves of individuals to be fully depleted before the end of winter hibernation.

Periodic arousal, the process associated with rewarming from torpor, is characterized by an extreme rise in physiological and metabolic activity, accounting for the major energetic cost of torpor (Boyer and Barnes 1999). Arousal episodes represent a return to euthermia, which are supposed to be required for restoration of physiological homeostasis after long torpor bouts (Humphries et al. 2003). Periodic arousals are also associated with massive production of reactive oxygen species, also called free radicals (Orr et al. 2009). Free radicals, notably those issued from lipid peroxidation, have drastic consequences on the organism. It has been suggested that the more frequently an individual rewarm from torpor during hibernation, the higher the amount of free radicals produced, which in turns affect cell integrity and cellular components, including telomeres (Giroud et al. 2014; Hoelzl et al. 2016; Nowack et al. 2019). Another limiting aspect of torpor use resides in the fact that, although torpor promotes fat storing, the state of hypometabolism is not compatible with the process growth. Indeed, a low metabolic rate induces a cessation of protein synthesis (van Breukelen and Martin 2002), an arrest of mitosis, and an inhibition of active transports across cell membranes (Kolaeva et al. 1980). Moreover, arousal episodes induce a temporary change of substrate, from lipid to protein metabolism, as indicated by an increase in the respiratory quotient during the first step of arousal (Dark 2005). Besides the major energetic cost of periodic arousals, the shift in metabolic fuel is also extremely costly for juveniles. In several hibernators, body mass loss during winter is associated with a moderate decline in lean mass and an interruption of growth (Mahlert et al. 2018). A reduced growth period can lower individual's fitness, increasing the risk for juveniles to not be competitive enough at the next reproductive season (Vaterlaus-Schlegel 1997).

Although torpor provides significant energy saving, its use also implies some negative, sometimes deleterious, aspects that might limit the employment of such hypometabolic state, notably by juveniles. However, the use of alternative strategies is also possible for juveniles to substantially reduce their energetic costs, without entering into an hypometabolic state.

ii. Social thermoregulation or 'huddling'

Huddling is a cooperative group behavior, characterized by close aggregation of individuals. Animals involved in such behavior benefit from lower heat loss and energy expenditure than isolated individuals, as aggregation reduces the surface to cold exposure.

Around 67 species of mammals and 25 species of birds employ this strategy, whose major advantage is its ability to be combined with other behaviors (Gilbert et al. 2010).

The use of huddling is expected to provide many benefits for juveniles. First, huddling provides the maintenance of a high body temperature, requires for growth (Gilbert et al. 2012). It triggers an increase of the temperature in the nest or in the group as shown in Figure 53, which is particularly advantageous for juveniles in their early stages of life, when they are threatened by extreme heat loss (Nowack and Geiser 2016; Kuepper et al. 2016). It also helps in reallocating the saved energy to other functions such as growth or reproduction (Gilbert et al. 2012), as it reduces energy expenditure by 6-53% depending on the species and number of individuals involved, the ambient temperature and the density of aggregations. Moreover, huddling individuals benefit from a higher survival and growth rate. It also provides a decreased food intake, water loss and metabolic rate.



Figure 53 : Nightly clustering in communal roosts and the regular presence of adult females at night provide thermal benefits for juvenile Bechstein's bats.

Example of pictures obtained with thermographic cameras, showing a group of young bats and one singly hanging bat. The elliptic tool Elipse 1 (blue) is measuring the singly hanging juvenile's temperature; Elipse 2 (green) is measuring the group's temperature. Triangles facing up and down indicate spot of highest and lowest temperature (Kuepper et al. 2016).

D. Importance of phenotypic plasticity for juveniles to survive environmental fluctuations

a. Phenotypic plasticity and trade off in energy expenditure

There are a lot of constraints that juveniles face, and can be very changeable. Their survival and fertility are very dependent on their growth and body condition, itself depending on the resources available, environmental conditions, nourishing capacities of parents, but also time, predation, competition, etc. This multitude of constraints, variable at the individual scale, are compensated by a significant plasticity in the response of juveniles. For example, we have previously said that young king penguins follow the adults at the beginning of their first trip. However, while the common focus on a resource-rich area is a gain in time and energy, hunting among adults with superior performance can trigger food-competition, thus reducing juvenile's foraging success. This same study showed that the trajectories of juveniles rapidly differ from those of breeding individuals, rather focusing on environmental indicators, probably to limit this competition (Orgeret et al. 2019c). Finally, at the cellular level, there is also a flexibility in oxygen consumption and energy production according to the environmental and physiological conditions of juveniles. For example, in juvenile royal penguins, which are fasting during the post-weaning period, the synergy between caloric restriction and hypothermia results in an increase in the efficiency of mitochondrial coupling in skeletal muscle, strongly contributing to limiting energy losses and depletion of body reserves (Monternier et al. 2014). Therefore, this mitochondrial plasticity allows them to cope not only with fasting but also with bad environmental conditions.

We said one important achievement for juveniles in preparation to a seasonal event is to promote fat storing to survive the upcoming winter, as they will be facing periods of food shortage. As for all individuals, juveniles need to accumulate sufficient levels of energy reserves, whether they are migrants or hibernating species, to overcome the recurrent event. However, at the same time, juveniles cannot set aside growth and development before facing periods of food restriction (as discussed above). Therefore, there is trade-off between the maximization of resources and the time available before tough conditions occur. This is especially true for individuals born late in the season that have to face already degrading conditions. Further, there is also a balance between the costs of juvenile mortality and the

benefits of developing large adult size or early maturation. For example, increasing foraging activities to get a sufficient growth can be costly and result in higher juvenile mortality through a riskier behavior towards predation. Hence, being sufficiently flexible confers a clear advantage to juveniles by more efficiently balancing predation risks, leading to mortality, and ensuring sufficient growth and maturation. The notion of phenotypic plasticity is strongly relevant for energetic issues. By modulating their energy expenditure via the regulation of different physiological functions, juveniles are able to save energy, allocating it later to enhance growth, and to survive periods of reduced energy availability and/or thermal challenges (Gilbert et al. 2012).

Enhanced phenotypic flexibility appears to be the solution allowing vulnerable individuals to hold their major role in population dynamics, despite fluctuating environmental constraints - characterizing seasonal environments - which now days increase drastically due to ongoing climate changes. In particular, phenotypic plasticity of juveniles can be reached through variations in growth rate, and/or the flexible use of energy-saving strategies, such as the combination of huddling with torpor.

b. Maximizing the flexible use of energy-saving strategies

The behavior of huddling can act in synergy with torpor, as it enhances energy-saving by both increasing the benefits and reducing its costs. Several studies compared the length of torpor bouts between grouped and isolated individuals. For instance, Siberian hamsters showed longer torpor bouts when housed in groups compared to when isolated (Jefimow et al. 2011; Nowack and Geiser 2016). Moreover, the minimum body temperature reached during torpor was higher in grouped hamsters than in solitary individuals. Similarly, as less energy is expended to produce heat, it can be reallocated to other functions such as growth or development (Jefimow et al. 2011).

Huddling also acts on reducing the costs associated with the use of torpor. It reduces the unavoidable body mass loss triggered by torpor and food deprivation, which is of particular relevance for juveniles, as they do not always have significant levels of fat store and body mass gain. For instance, in Siberian hamsters housed in groups, the body mass loss triggered by food deprivation during torpor is less than that in animals housed singly. Indeed, in this study although all animals displayed seasonal changes in body mass (single or grouped), individuals

kept in groups showed a higher mean body mass than animals kept singly (Jefimow et al. 2011).

The benefits resulting from such synergy between huddling behavior and torpor use can result in higher fitness and higher reproductive success (Gilbert et al. 2010; Nowack and Geiser 2016). By saving more energy for survival, huddling would enable juveniles to maintain a better body condition and this would ensure higher competitiveness of juveniles during the next reproductive season.

E. Early life conditions and implications later in life

Beside clear ecological advantages of variations in growth and developmental rates, compensatory growth can also be linked to potential evolutionary implications for individuals and possibly for populations. Different models attempt to describe the possible consequences and implications of early life conditions on performances of individuals later in life.

The 'predictive adaptive response' hypothesis suggests that phenotypic development does not exclusively depend on genetic, but also on the environment experienced during development (Monaghan 2008). In this context, when an organism is exposed to specific environmental conditions during early life, the flexible responses induced can trigger an adjusted development for a better anticipation of future conditions (Gluckman et al. 2005b; Nettle et al. 2013). Consequently, conditions faced by the offspring are expected to determine their ability to cope with future situations and to modulate their evolution. A higher fitness is thus expected when the adult environment matches the one experienced during development. For example, in a poor environment, adults born under resource-poor conditions would have a higher fitness than those born and raised under good conditions. An alternative model, the 'silver spoon effect', describes a situation in which individuals born in good conditions have a higher fitness later in life than those born under poor conditions. In that case, no phenotype-environment matching occurs, and individuals born under resource-poor conditions are expected to suffer from disadvantages, resulting from their early-life conditions, independently from their current environment (Monaghan 2008). In some Pinnipeds, the effect of early-life conditions on post-weaning behavior and the development of protective behavior against predators has been reported. For example, the movements of

young subantarctic fur seals are different depending on the activity at weaning, which is different according to population density.

Juveniles from low-density colonies were more active and transitioned earlier into areas that offer protection from predators and extreme weather, regardless of their weaning mass and size (Nagel et al. 2021). The hypothesis is that a lower density of animals would limit the pressure of conspecifics on the expression of a full behavioral repertoire. This could have more effect than juvenile's physiological condition later in life. For instance, several other studies on different Pinnipeds suggest that early-life conditions influence habitat choice in adults more than animal mass or size (Leung et al. 2014; Bishop et al. 2018; Zeppelin et al. 2019; Carter et al. 2020). To go further, some transgenerational effects of early caloric deficit have also already been reported in humans, such as poorer health conditions and an increase in several diseases in children whose mother had experienced famine during the pregnancy (Painter et al. 2008; Rickard et al. 2012).

Another evolutive consequence of compensatory growth in response to ecological constraints have been recently suggested, describing the modulation of the trade-off between current and future reproduction (Montiglio et al. 2018). Indeed, organisms have to choose to what extent their reproduction is a priority relative to their maintenance and survival (Stearns and Stearns 1992). For example, breeding female southern elephant seals sometimes skip the reproduction, and this is more likely to occur in poor environmental conditions and body condition (Guinet et al. 1998). Depending on the trade-off between reproduction and survival, population range from individuals prioritizing reproduction over survival, i.e. a fast life history, to individuals favorizing survival over reproduction, i.e. a slow life history (Promislow and Harvey 1990). Such differences in life history strategies are related to differences in physiological and behavioral traits (Montiglio et al. 2018), also known as the pace-of-life syndrome (POLS). This hypothesis predicts a covariation between life history, behavioral, and physiological traits under precise conditions. Recent studies suggest that predation risk, challenges posed by resource acquisition, and energy management strategies performed by organisms could disturb the relationships among behavior, physiology, and life history (Montiglio et al. 2018; Debecker and Stoks 2019). Indeed, temporal or spatial environmental modifications can impact an individual's morphology, life history, or behavior (Montiglio et al. 2014), and induce more plastic POLS acting as drivers of evolution (Montiglio et al. 2018; Debecker and Stoks 2019).

F. Conclusion

Phenotypic plasticity during the early life stage, notably of energy-saving strategies such as huddling and torpor, are determinant for juvenile's survival and reproduction, enhancing future fitness and ensuring sustainability of species. This flexibility is even more important as environmental fluctuations tend to be more pressuring, due to climate change and global warming. These changes are notably characterized by increases in surface temperatures as well as more frequent occurrence of extreme weather events, leading to increased unpredictability in temperature fluctuations and resources availability. Although this review supported the adaptation of species to survive in a changing environment, growth plasticity may be limited by climate change (Easterling et al. 2000; Mitchell et al. 2006). Such questions clearly require further investigations. To this extent, the occurrence of climate change appears to represent a real challenge to the study of thermal ecology, and ecological constraints faced by populations and communities, as well as its consequences on population dynamics.

II. Annexe 2 : Extreme Fieldwork: Flame-sealed Capillaries versus Frozen Serums to Estimate Body Composition of Southern Elephant Seals (*Mirounga leonina*) using Isotopic Dilution.

Laura M. Charlanne (ORCID 0000-0002-9884-8434)¹, Alexandre Zahariev¹, Christophe Guinet (ORCID 0000-0003-2481-6947)², Erwan Piot (ORCID <https://orcid.org/0000-0002-7175-7831>)^{3,4}, Jérôme Badaut (ORCID 0000-0001-8475-0519)⁴, Caroline Gilbert (ORCID 0000-0002-9957-405X)^{3,5}, André Ancel (ORCID 0000-0002-3497-2591)¹, Audrey Bergouignan (ORCID 0000-0002-1266-5144)¹

¹Université de Strasbourg, CNRS, IPHC UMR 7178, 67000 Strasbourg, France

²Centre d'Etudes Biologiques de Chizé (CEBC), UMR 7372, La Rochelle Université -CNRS, 79360 Villiers en Bois, France

³UMR 7179, CNRS/MNHN, Laboratoire MECADEV, 1 avenue du petit château, 91400, Brunoy, France

⁴CNRS UMR5536, Université de Bordeaux, 33076 Bordeaux, France

⁵École Nationale Vétérinaire d'Alfort, 7 avenue du Général de Gaulle, 94700 Maison-Alfort, France

*Corresponding author: laura.charlanne@iphc.cnrs.fr

Article publié dans *Polar Biology*
<https://doi.org/10.1007/s00300-024-03301-5>

A. Abstract

Body composition is an important parameter in diving animals intermittently fasting on land, such as southern elephant seals, as it is known to impact their time of departure at sea, swimming effort, foraging success, and survival. Deuterium labeled water is commonly used to assess total body water, but a precise indication of equilibration time in this species and reliable sample storage are lacking. We injected newly weaned southern elephant seal female pups with deuterium labelled water. We thereafter blood sampled the seals several times to assess the equilibration time and body composition. We implemented two storage methods, flame-sealed capillaries and frozen serums stored at -20°C in a gas freezer. The frozen serums method was reliable as capillaries and safer to bring undamaged samples from the field. This method of determining body composition in wild animals is reliable and easily applicable for isolated and difficult-to-access fieldwork.

B. Introduction

The balance between fat and fat-free mass is a crucial parameter in animals' fitness (Mumby et al. 2015; Mota et al. 2021; Currie et al. 2021). It greatly affects their physiological and behavioral coping strategies to face changing environmental conditions (Stirling et al. 1999; Vuarin et al. 2013; Williams et al. 2013). In marine mammals, it influences their diving behavior as it determines their buoyancy and swimming effort and provides insights on their foraging success (Orgeret et al., 2019a; Williams et al., 2000). In pinnipeds (seals and sea lions), fat reserves are highly variable throughout the year, with large fluctuations in body mass and condition associated with reproduction, molting, and foraging (Tierney et al. 2001).

Isotopic dilution with deuterium-labeled water (D_2O) is commonly used to estimate body composition in animals and humans (Speakman 1998). Following a first blood sample collection to determine the background enrichment level in deuterium isotope, the subject is administered with a known dose of D_2O that will spread within body water compartments. A second blood sample is taken when D_2O is equilibrated with total body water (Speakman 1998). Knowing the concentration of the second blood sample and the injected dose we can calculate total body water, protein, and fat content using validated equations (Reilly and

Fedak 1990; Speakman 1998). However, the accuracy and precision of the method depend on the experimental conditions and the investigator's training. The full dose needs to be injected into the animal and the samples must be properly stored until analysis in the laboratory.

Whole blood samples are commonly collected with glass capillaries that are flame-sealed with a torch at both ends (Arnould et al. 1996; Mata et al. 2006; Bennett et al. 2007; Lee et al. 2011). Whole blood D₂O concentration from flame-sealed capillaries is reliable (Speakman 1998), as no intermediary steps are needed (e.g., centrifugation or transfer to a tube), which limits isotopic exchange with the air. However, capillaries must be rapidly sealed to avoid isotopic fractionation without burning the blood or stretching the capillary. If the tubes are not correctly sealed, the capillary can break during transport, or air can leak in, prohibiting sample analysis. Researchers must practice to ensure they can adequately seal tubes, yet even with experienced researchers, issues may still occur. Because it is impossible to check if tubes are air tight in the field, blood collection with capillaries is usually done in triplicate to minimize sample loss. This is time-consuming and costly. Finally, flame-sealing is not always possible in extreme environments or adverse weather conditions.

Due to these challenges, other storage conditions that do not involve flame-sealing are often used, such as storing whole blood, plasma, or serum in air-tight vials and freezing (Boyd et al. 1993; Gales et al. 1994; Nordøy et al. 1992; Reilly and Fedak 1990). However, these methods have not been evaluated by comparing measurements with data from the gold standard method, flame-sealed capillaries. This is important because isotopic exchange with the air could occur during centrifugation or transfer to a tube for storage, especially when working with small volumes (Lifson et al. 1949). Any isotopic fractionation would modify deuterium enrichment values and body composition measurement.

Southern elephant seals (SES), large phocid seals inhabiting the Southern Ocean (Le Boeuf and Laws 1994), spend two-third of their live foraging at sea. One of the main colonies is located at Kerguelen Archipelago, equidistant from Australia and Africa and 2000km away from Antarctica (Mawson 1934), with a total of 340 000 individuals (satellite imagery estimation (Laborie et al. 2023)). On this island, they haul out and fast several weeks twice a year to breed (September-November for the females, August-December for the males) and molt (January-February for the females, December-January for the males (Hindell and Burton 1988)). During the breeding season haulout, females give birth a few days after arrival and nurse the pup for approximately three weeks before returning to the sea (Le Boeuf and Laws

1994). Juveniles remain on land and fast for three to five weeks after their mother's departure and before embarking on their first sea travel (Modig et al. 1997). To improve our understanding of the energetic requirements of SES, it is essential to understand how the body composition changes throughout the year. For example, estimating body composition changes in adults during on-land periods is critical in estimating the allocation of resources to reproduction, molt, and remaining reserves for the next trip (Guinet et al. 1998). In pups, body condition appears to be determinant in the timing of their at-sea departure at the end of the post-weaning period (Guinet 1992; Williams et al. 2000) and their survival (Cox et al. 2020). While biologging technologies allow for accurate monitoring of buoyancy and body condition changes through foraging effort (Biuw et al. 2003; Adachi et al. 2023), we lack precise body condition values to determine the contribution of each compartment and metabolic substrates to the important energy requirements while diving. To address this question, it is crucial to rely on precise and accurate methods to estimate individual body composition.

A previous study on the northern elephant seal (NES, *Mirounga angustirostris*) that measured body composition in 4 adult female SES determined that it required 3-4h for the D₂O to equilibrate with total body water after an intramuscular injection (Costa et al. 1986). The same equilibration time was used in other studies after an intraperitoneal injection of tritiated water on NES (Aoki et al. 2011). Based on this data, a 4h equilibrium period was assumed in other studies for juvenile SES after an intramuscular injection (Schoeller et al. 1980; Carlini et al. 2000, 2001). However, a shorter equilibration time of 90min was found after an intravenous injection of tritiated water in adult crabeater seals (*Lobodon carcinophagus*, (McDonald et al. 2007)) and Weddell seals (*Leptonychotes weddellii*, Shero et al. 2014). Restraining a wild animal for 4h is stressful and restrictive in the field. Because they are 2 times smaller and 5 times lighter (Costa et al. 1986; Hindell et al. 1994), and intravenous diffusion is faster than intramuscular diffusion, equilibration time in intravenously injected juvenile SES may be shorter than 4h (Speakman 1998). Determining the plateau of equilibration between the dose and total body water would help to optimize handling and minimize disturbance. This study has two objectives: 1) to evaluate whether storing frozen serum samples impacts total body water estimates calculated from ²H-enrichment when compared to the gold standard - flame-sealed capillaries, and 2) to determine the equilibration duration for D₂O in

juvenile SES. This would allow us to improve our understanding of the energetic requirements of SES, using a reliable method that would benefit both the subject and researcher.

C. Methods

a. Animals

In 2022, from mid-October to early November, we investigated recently weaned female SES (three weeks old, $n=11$) during the post-weaning period on the Estacade site ($49^{\circ}16'S$, $70^{\circ}32'E$), Kerguelen Archipelago. As a sex difference in metabolism and energy has already been described for juvenile SES (Field et al. 2005), we decided to sample only females.

b. Data Collection and Analysis

Individuals ($n=11$) were captured during the post-weaning period, straight-line body length was measured to the nearest cm and weighed to the nearest kg, blood-sampled, injected with D_2O , and blood-sampled 3 to 4 hours later. Among these pups, 10 were recaptured every 5 to 8 days for 3 weeks, and the same tests were conducted with each blood draw. Equilibration time was estimated on the 11th pup. This pup was not included in the longitudinal monitoring to minimize handling stress and disturbance. At baselines, inappropriate manipulations of the syringes used for drawing blood to measure background enrichment and the ones used for injecting D_2O dose induced a contamination of the blood samples. These samples could not be used. As an alternative, we measured background enrichment in blood collected the same year at the same location in five other juvenile females who were not injected and applied it to the 11 pups. Such issues did not occur at any other time point.

c. Isotope Techniques

For each pup's first injection, a pre-weighed dose (5.67 ± 1.12 g or 0.058 ± 0.002 g/kg, Speakman, 1998) of D_2O , (deuterium oxide 99.8% microbiologically tested, Eurisotop, Saint-Aubain, France), weighed to the nearest 0.01g with a calibrated scale (DOMO - DO9096W,

0.01g), was administered intravenously into the epidural sinus. To avoid residual D₂O in the syringe and needle, the syringe was flushed with pup blood three times before needle removal from the epidural sinus. Following published protocols (Costa et al. 1986; Carlini et al. 2000, 2001), pups were left for 3 to 4h after injection to allow equilibration between D₂O and total body water; a second blood sample was then drawn. Each pup was recaptured five to eight days later, and the same blood sampling-D₂O injection protocol was performed until the end of the post-weaning period (three weeks). The second, third, and fourth D₂O injections were at lower concentrations (4.41 ± 0.67 g or 0.048 ± 0.004 g/kg; 3.10 ± 0.59 g or 0.035 ± 0.001 g/kg; 1.66 ± 0.13 g or 0.022 ± 0.001 g/kg, respectively) to account for residual deuterium enrichment.

An estimation of equilibration time was performed on one female pup. This pup was captured, weighed, and injected with one dose of D₂O. Blood samples were taken at approximately 2, 3, 4, and 5h post-injection.

d. Blood Sample Collection

Blood was collected from the extradural vein into a 5 cc non-heparinized syringe. The syringe with blood was quickly transported back to the shelter for processing because it was impossible to flame seal the capillary tubes outdoors in adverse weather (wind/rain). The following processes were made within 5min of collection to prevent coagulation in the syringe. First, as the reference method, blood was transferred from the syringe to three non-heparinized capillary tubes (ringcaps[®] 100 μ L disposable capillary pipettes, Hirshmann) using a 21G needle, and the tubes were immediately flame-sealed (Speakman 1998). To avoid fractionation by heating the water in the blood, the flame was 1cm away from the sample inside the tube (Steele et al. 2024). Triplicates were stored at ambient temperatures. The remaining blood in the syringe was transferred to airtight vials (Roth[®], 1.5-2.0mL), centrifuged for 15min at 500g (VWR[®] Micro Star 12), and the serum was drawn off by a pipette in another airtight vial (1.5mL, headspace 0.7 - 0.5mL) sealed with Parafilm[®]. It was stored at -20°C in a freezer powered by a fuel-driven generator in the field to limit air contamination. When the animal was more than a 5-minute walk from the shelter (n=3), flame-sealed capillaries were not made as blood coagulated in the syringe before it could be transferred to capillary tubes

in the shelter. For these 3 measurements, blood was immediately transferred in an airtight vial sealed with Parafilm® in the field and centrifuged later in the shelter.

Serum samples were moved from the shelter to the scientific base by walking with ice packs. They thawed during this transport and were refreeze in the scientific base. During the transport between Kerguelen and the lab (IPHC CNRS UMR7178 in Strasbourg, France), they were stored at -20°C in a freezer on the boat (15 days). They were transported with ice packs on the plane and train (thawing for approximately 24 hours) before long-term storage at -20°C. The use of airtight vial sealed with Parafilm® is thus very important to prevent small air leakage and gas exchanges with ambient air.

e. Blood Sample Preparation and Analysis

At Strasbourg, samples were analyzed for D₂O enrichment at the mass spectrometer core laboratory. Each capillary was cryo-distilled under a vacuum system to extract the water from the blood. The capillary was placed inside the airtight vacuum system and crushed with a glass pestle. From then, the blood was distilled for 10min to prevent isotopic fractionation. From the serum, a volume of 200µL was thawed and placed in the vacuum system. The liquid was frozen with nitrogen before vacuum-filling, then heated and the water was separated from the serum by sublimation. Distillated samples were frozen at -20°C in Microvial i3 (Qsert) crimped with Verex Seal 11mm, PTFE/sil/PTFE (Verex, Phenomenex, USA) and further analyzed by mass spectrometry. A liquid autosampler (GC Pal, CTC Analytics, Zwingen, Switzerland) injected 0.1µL of the distillate samples into an elemental analyzer with thermal conversion coupled with a ConFlow III to a continuous flow isotope ratio mass spectrometer (IRMS, DELTA V PLUS, Thermo, Bremen, Germany). It was pyrolyzed at 1400°C and converted into H₂ and Co gases in a glassy carbon tube under pure He N60 (Linde Gas, France) flow at 90mL/min. H₂ was separated from Co at 110°C on a molecular sieve gas chromatographic column before analysis by IRMS.

All measurements were drift-corrected using a mean drift correction based on in-house standards that were run simultaneously, and eventually, a memory effect correction was applied. All results were normalized versus the VSMOW2/SLAP2 international scale according to the guidelines for isotope measurements (Dunn and Carter 2018).

Spectrometer analyses were performed in quadruplets. Samples were re-analyzed if SD was still greater than 2‰ after excluding one extreme value out of the four values. The final value is the mean of at least three measures. The dilution space Nd or ²HHO space was calculated using Coward's equation:

$$Nd(mol) = \frac{W \times A}{18.02 \times a} \times \frac{\delta a - \delta t}{\delta s - \delta p}$$

where:

W is the amount of water used to dilute the dose injected,

a is the dose diluted for analysis,

A is the amount of dose administrated,

δa is the enrichment of the dose,

δt is the enrichment of diluted water,

δs is the equilibrium enrichment of the dose in the body,

δp is the background level of isotopes.

Calculations of Total Body Water

Determination of total body water was made from the dilution of D₂O measured in the blood sample after a 3-4h equilibration. Total body water as a percent of body mass was calculated using equation (1) Reilly and Fedak (1990) to correct for water overestimates (2.8±0.9%). Total body fat and protein were calculated as a percent of body mass according to (2) and (3) (Reilly and Fedak 1990).

$$(1) \text{ Total body water} = 0.382 + 0.965 * (^2\text{HHO space})$$

$$(2) \% \text{ Total body fat} = 105.1 - 1.47 * (\% \text{ total body water})$$

$$(3) \% \text{ Total body protein} = 0.42 * (\% \text{ total body water}) - 4.75$$

f. Statistical Analysis

Statistical analyses were performed with R software (R version 4.1.2). Values are given as mean ± SD, and significance was set up at P<0.05. We compared the two storage methods

(flame-sealed capillaries versus frozen serums in vials) using a Bland-Altman plot and statistics (R-package “BlandAltmanLeh”, Bland and Altman, 1986) to determine overall agreement and limits of confidence. We calculated:

- The bias is defined as the mean of the difference between the two methods
- The precision is defined as the mean of the absolute values of the difference between the two methods. While bias can be compensated by sometimes positive or sometimes negative differences, the precision considers all differences whatever their sign
- The limits of agreements (or the 95% limits) are calculated as the bias \pm 1.96 SD. It is expected that the 95% limits include 95% of differences between the two measurement methods

The normality of residuals was checked by inspecting quantile-quantile plots and running a Shapiro-Wilk test.

D. Results

a. Animals

Animals weighed 97.3 ± 18.7 kg at weaning and 88.6 ± 17.6 kg at the end of the monitoring (n=11). Total length was 126.6 ± 13.8 cm. We measured body composition in 11 pups at baseline at weaning. As juveniles prepare to depart on their first foraging trip, they move around the colony more and increase time spent in water departure, resulting in our inability to relocate them. Once we could not locate a seal for a sampling period, we could no longer monitor that seal. This explains the decrease in body composition measurements as pups matured: of the eleven pups, nine were sampled one week after weaning, eight pups two weeks after weaning, and four pups three weeks after weaning. Two pups had body composition measured only at baseline, including one used to determine the time to reach equilibration time.

b. Sample Quality

Results are presented in Table 19. A total of 255 samples were collected, corresponding to 72 frozen serum samples and 61 capillaries collected in triplicate, i.e., 183 capillaries. Among the 61 capillaries, 56 were used for body composition measurements, with 28 baselines, 28 blood samples after equilibration, and 5 on one female to validate equilibration time (1 capillary for baseline and 4 capillaries at 2, 3, 4, and 5h post-injection). Out of the 72 frozen serum samples, 62 were used for body composition measurements (31 were baseline, 31 were collected after equilibration), 5 were used to validate equilibration time (1 serum sample for baseline, 4 serum samples at 2, 3, 4, and 5h post-injection), and 5 were from non-injected individuals used to assess background enrichment.

One measure was considered lost if one or both points were lost (baseline and/or equilibration point). Of the planned body composition measures, 37.9% were lost when blood was stored in flame-sealed capillaries and 16.1% when samples were stored as frozen serum. The two main causes of measure loss were: i) the three capillaries (triplicate) were all damaged during storage or transport, resulting in dried blood or evidence of air leakage during the distillation (no increase of the pressure in the vacuum system avec the tube was crushed), and ii) non-physiological measures of deuterium enrichment (more than 20 000 $\delta^{\circ}\%$), probably due to deuterium contamination during injection and blood collection and/or non-detected small air leakage in capillaries before the distillation.

	Capillaries	Serums
Number of collected samples	183*	67
Number of planned measures	29	32
Number of lost measures	11 (37.9%)	5 (16.1%)
Loss of both time points (baseline + equilibration)	7 (63.6%)	0
Loss of one time point	4 (36.4%)	5 (100%)
Reasons for measure loss		
Non-physiological value	2 (18.2%)	5 (100%)
Storage/transport damages	9 (81.8%)	0

Table 20 : Details related to sample collection, including the number of lost measures and reasons for measure loss.

Loss of one point or both baseline and equilibration, non-physiological value of D₂O enrichment (>20 000 ‰, probably related to sample contamination with pure D₂O), or damaged capillaries (broken or air leakage).

*Capillaries were made in triplicate to minimize transport damages (61*3).

c. Total Body Water and Storage Conditions

At weaning, juvenile female SES showed a mean total body water of 42.5±4.7% when measured with capillaries and 43.7±2.9% when measured with frozen serums (n=11).

Total body water measured from frozen serums and capillaries were positively correlated (Figure 54a, n=9, Pearson correlation, $R^2=0.89$). The Bland-Altman plot (Bland and Altman 1986) indicates that frozen serum provided similar results and the gold standard, flame-sealed capillaries (Figure 54b). The calculated bias was $0.05 \pm 1.00\%$ total body water, and the limits of agreement (bias±1.96 SD) were -2.06% to 1.96% total body water. The calculated precision between the two methods was $0.77 \pm 0.63\%$ total body water, and the residuals were normally distributed (Shapiro-Wilk test, $W=0.98$, $p=0.96$). A bias of $0.05 \pm 1.00\%$ total body water represents a bias of $0.02 \pm 0.40\%$ for proteins and $0.07 \pm 1.50\%$ for fat mass (Reilly and Fedak 1990).

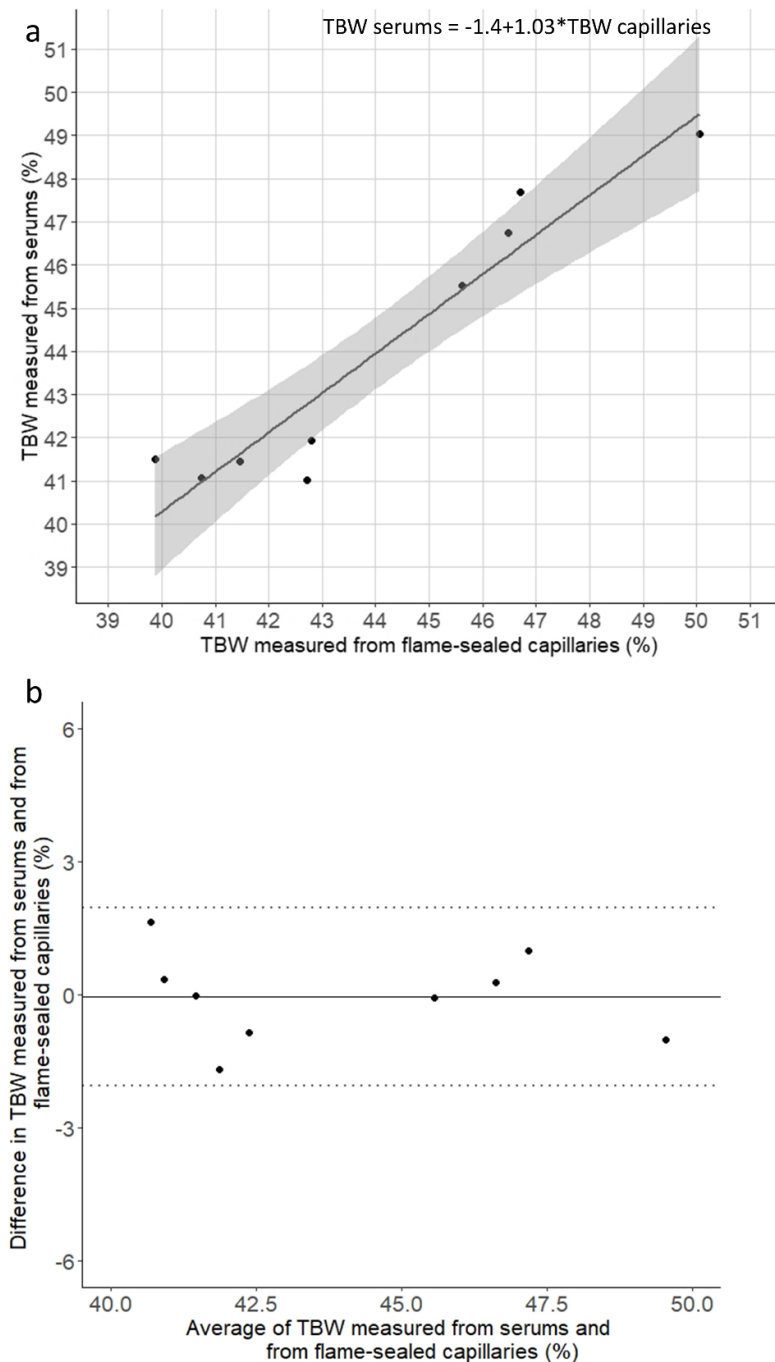


Figure 54 : Comparison of two storage conditions (flame-sealed capillaries, and frozen serums) to measure total body water (TBW) in juvenile southern elephant seals

a: Relationship between total body water (TBW) measured from capillaries and frozen serums ($n=9$, $R^2=0.89$).

b: Bland–Altman plot showing the bias and limits of agreement between the percentage of total body water (TBW) determined with serums and capillaries ($n=9$). Calculated bias was $0.05 \pm 1.00\%$ TBW. Limits of agreement (bias $\pm 2\text{SD}$) were -2.06 to 1.96% TBW

d. Equilibration time

The mean baseline enrichment for SES at Estacade, Kerguelen Archipelago, was 62.5 ± 3.8 delta per mil ($n=5$). The deuterium enrichment curve for one juvenile SES was graphically determined (Figure 55) for both storage methods (capillaries and serums). Enrichment reached a plateau between the 2h and 5h post-dose injection samples for both

storage methods. Therefore, we conclude that a second blood sample can be taken after 2h and up to 5h post-injection in pups.

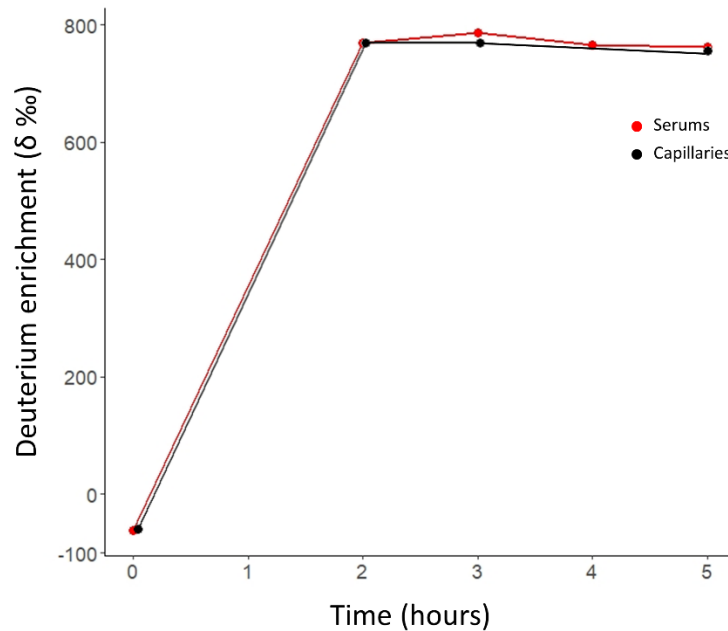


Figure 55 : Equilibration time of D₂O in juvenile southern elephant seal.

Blood deuterium enrichment was determined for one juvenile female SES (113kg, 129cm) at various time intervals after the initial D₂O injection. Blood samples were stored as either frozen serums (red circles) or fresh blood in flame-sealed capillaries (black circles)

E. Discussion

This study shows that frozen serum samples do not impact total body water estimates and reduced sample loss when compared to the gold standard - flame-sealed capillaries. It also determines a shorter equilibration duration for D₂O in juvenile SES than was usually assumed in this species. These results provide new information on a reliable method to determine body condition in difficult-to-access fieldworks, which would benefit both the subject and researcher by reducing handling, waiting time, and sample loss.

Losses of serums were exclusively related to contamination with pure deuterium due to experimental issues on the very first measures at baseline. In contrast, more than 80% of the lost capillaries were broken or leaky due to transport and/or sealing. The appearance of good, average, and bad flame seal is illustrated in a recent study (Steele et al. 2024). Although a bad seal is easily noticeable in the field, it is difficult for a poor-experimented person to

identify an average seal, while these tubes would easily break during the transport. Also, sealing with the flame too close from the blood can heat the water and trigger fractionation or completely dry the blood. Letting sufficient space when transferring the blood sample in the capillary to avoid heating during the sealing is thus very important for reliable measurements (Steele et al. 2024). This shows the difficulty of correctly flame-sealing capillaries in the field and bringing back fragile samples from difficult-to-access locations, especially for a poor-experimenter in flame-sealing person.

Inappropriate syringe manipulations at baselines precluded the use of individual background enrichment in this study. As an alternative, we applied to the 11 pups a mean background enrichment measured in 5 other juveniles of the same age, the same year at the same location. Doing so, we assumed a similar background enrichment for all the animals involved in this study. Individual background enrichment is influenced by location and everything ingested by the animals (water, prey) (Speakman 1998). As the 5 other juveniles were on the same beach, we can neglect the effect of location. Also, juveniles only fed on milk at this stage. Milk enrichment is strongly dependent on the mother's enrichment. The previous study on adult female SES did not report variations in background enrichment of the animals, which is consistent with foraging areas that do not differ in environmental enrichment (Costa et al. 1986; Bailleul et al. 2007). This explains the low variations of background enrichment measured in the 5 juveniles (-65.5 ± 3.8 delta per mil) and is consistent with the environmental enrichment of Kerguelen Island (International Atomic Energy Agency 2001).

Juvenile female SES total body water measurements are in line with those previously reported in other populations of SES pups (48.2% (n=7) and 46.6% (n=47) at King Georges Island (Carlini et al. 2000, 2001); 41.4% (n=19) at Macquarie Island (Hindell et al. 1994). The maximum over/underestimation between the two methods (40g for protein and 1.5kg for fat content) is minimal as animals are weighed to the nearest kg in the field, making frozen serum as reliable as the gold standard method, flame-sealed capillaries. Due to the remoteness of the fieldwork, the serum did not remain frozen during the entire transport, as reported in the method section. However, this seems to have minimal effects on total body water estimations. Keeping the serum frozen is a supplementary caution to limit isotopic exchange with ambient air. Still, the use of airtight vials and Parafilm® to seal the airtight tubes appears to be sufficient to ensure the quality of samples if they remain unfrozen for short periods.

This study found an equilibration time of 2h after an intravenous injection in SES pups. This time range is shorter than previously reported with tritiated water in adult NES (Costa et al. 1986) but consistent with the animals and administration of D₂O in this study. First, our juvenile has a smaller body size, mass, and volume than the adult females of the previous study, which contributes to shortening the time for the D₂O to equilibrate with total body water (Speakman 1998). Above all, we did an intravenous injection rather than an intramuscular one (Costa et al. 1986), which greatly contributed to reducing the time to equilibrate with total body water fully (Speakman 1998). In that line, the equilibration time we measured is close to the one already found in adult Weddell and Crabeater seals after an intravenous injection. SES, Weddell, and Crabeater seals have nearly the same body fat percent (Carlini et al. 2000, 2001; McDonald et al. 2007; Shero et al. 2014). This highlights the importance of how labelled water is administered rather than the age/size of individuals with similar body condition. However, determining equilibration time remains crucial when investigating different species with different life stages, metabolism, and fat reserves.

The equilibration time was estimated on one single animal in this study to limit stressful handling on other animals, while it was made on 4 adults in Costa et al. 1986. Consequently, this result does not consider possible variations of D₂O diffusion related to different body condition at weaning, which can therefore be very variable (Arnbom et al. 1993a; Carlini et al. 2000). However, this juvenile was in the average body mass and size of SES pups (113kg and 129cm), and the previous study on adult females did not report an important interindividual variability (Costa et al. 1986). Also, as said before, it seems the way D₂O is administered has more impact on equilibration time than variation in body mass or size. However, it would be interesting to estimate the equilibration time for D₂O in other juvenile female SES with different body conditions at weaning, at least one fatter and one thinner.

During the interval between the baseline and equilibrium samples, researchers must keep an eye on or contain the animal. Therefore, minimizing this time will benefit both the subject and the researcher. Knowing that a second blood sample can be taken as early as 2h after an intravenous injection in juveniles is of great interest, as it reduces the time required for animal restraint, disturbance, and the risk the animal leaves after the dose injection.

Freezing serum appears to be a reliable alternative to flame-sealed capillaries for body composition measurements when experimental conditions preclude using flame-sealed capillaries. Using the frozen serum samples to estimate total body water provided results

comparable to those obtained with the reference method. In addition, the use of frozen serum reduced the number of lost samples by half. Although serums should be frozen to limit isotopic exchange with the air, short-term storage and transport at 4°C, do not seem to impact sample quality. This is valuable information, as it is not always possible to ensure samples remain frozen in the field. We conclude that freezing serums can be used when assessing body composition with deuterium-labeled water, and this is particularly relevant for isolated fieldwork, harsh conditions, and long and perilous sample transport.

F. Ethics declarations

Ethical approval

All experimental procedures were approved by the Ethics Committee of the French Polar Institute (APAFIS n° APAFIS#31082-2021031714221768 v3). All procedures were made according to the ARRIVE Guidelines.

Competing interest

The authors have no competing interests to declare that are relevant to the content of this article.

Funding

The overall study was funded by the French Polar Institute Program 1201 Cycleleph and doctoral fellowships of French Ministry of Higher Education and Research (ANR HYPO2).

Data availability

The experimental data and the simulation results that support the findings of this study are available in Figshare with the identifier [10.6084/m9.figshare.26809102](https://doi.org/10.6084/m9.figshare.26809102).

Références bibliographiques

- Abrams P, Leimar O, Nylin S, Wiklund C (1996) The Effect of Flexible Growth Rates on Optimal Sizes and Development Times in a Seasonal Environment. *The American Naturalist* 147:381–395. <https://doi.org/10.1086/285857>
- Adachi T, Lovell P, Turnbull J, et al (2023) Body condition changes at sea: Onboard calculation and telemetry of body density in diving animals. *Methods in Ecology and Evolution* 14:1457–1474. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.14089>
- Adachi T, Takahashi A, Costa DP, et al (2021) Forced into an ecological corner: Round-the-clock deep foraging on small prey by elephant seals. *Science Advances* 7:eabg3628. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg3628>
- Adams NJ, Brown CR (1990) *Energetics of Molt in Penguins*. Elsevier, pp 297–315
- Albon SD, Clutton-Brock TH, Guinness FE (1987) Early Development and Population Dynamics in Red Deer. II. Density-Independent Effects and Cohort Variation. *Journal of Animal Ecology* 56:69–81. <https://doi.org/10.2307/4800>
- Allen KN, Torres-Velarde JM, Vazquez JM, et al (2024) Hypoxia exposure blunts angiogenic signaling and upregulates the antioxidant system in endothelial cells derived from elephant seals. *BMC Biol* 22:91. <https://doi.org/10.1186/s12915-024-01892-3>
- Alsharif I (2022) Comprehensive exploration of the molecular response, clinical signs, and histological aspects of heat stress in animals. *Journal of Thermal Biology* 110:103346. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2022.103346>
- Altmann J, Alberts SC (2005) Growth rates in a wild primate population: ecological influences and maternal effects. *Behav Ecol Sociobiol* 57:490–501. <https://doi.org/10.1007/s00265-004-0870-x>
- Ancel A, Beaulieu M, Gilbert C (2013) The different breeding strategies of penguins: A review. *Comptes Rendus Biologies* 336:1–12. <https://doi.org/10.1016/j.crv.2013.02.002>
- Andrews RD, Jones DR, Williams JD, et al (1997) Heart Rates of Northern Elephant Seals Diving at Sea and Resting on the Beach. *Journal of Experimental Biology* 200:2083–2095. <https://doi.org/10.1242/jeb.200.15.2083>
- Ankney CD (1979) Does the Wing Molt Cause Nutritional Stress in Lesser Snow Geese? *The Auk* 96:68–72
- Aoki K, Watanabe Y, Crocker D, et al (2011) Northern elephant seals adjust gliding and stroking patterns with changes in buoyancy: Validation of at-sea metrics of body density. *The Journal of experimental biology* 214:2973–87. <https://doi.org/10.1242/jeb.055137>

- Armitage KB, Downhower JF, Svendsen GE (1976) Seasonal Changes in Weights of Marmots. *The American Midland Naturalist* 96:36–51. <https://doi.org/10.2307/2424566>
- Arnbom T, Fedak MA, Boyd IL (1997) Factors Affecting Maternal Expenditure in Southern Elephant Seals During Lactation. *Ecology* 78:471–483. <https://doi.org/10.2307/2266023>
- Arnbom T, Fedak MA, Boyd IL, McConnell BJ (1993a) Variation in weaning mass of pups in relation to maternal mass, postweaning fast duration, and weaned pup behaviour in southern elephant seals (*Mirounga leonina*) at South Georgia. *Can J Zool* 71:1772–1781. <https://doi.org/10.1139/z93-252>
- Arnbom T, Fedak MA, Boyd IL, McConnell BJ (1993b) Variation in weaning mass of pups in relation to maternal mass, postweaning fast duration, and weaned pup behaviour in southern elephant seals (*Mirounga leonina*) at South Georgia. *Can J Zool* 71:1772–1781. <https://doi.org/10.1139/z93-252>
- Arnould JPY, Boyd IL, Speakman JR (1996) Measuring the Body Composition of Antarctic Fur Seals (*Arctocephalus gazella*): Validation of Hydrogen Isotope Dilution. *Physiological Zoology* 69:93–116. <https://doi.org/10.1086/physzool.69.1.30164202>
- Ashmole NP (1963) The Regulation of Numbers of Tropical Oceanic Birds. *Ibis* 103b:458–473. <https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.1963.tb06766.x>
- Ashwell-Erickson S, Fay FH, Elsner R, Wartzok D (1986) Metabolic and hormonal correlates of molting and regeneration of pelage in Alaskan harbor and spotted seals (*Phoca vitulina* and *Phoca largha*). *Can J Zool* 64:1086–1094. <https://doi.org/10.1139/z86-163>
- Atkinson S, Becker BL, Johanos TC, et al (1994) Reproductive morphology and status of female Hawaiian monk seals (*Monachus schauinslandi*) fatally injured by adult male seals. *Reproduction* 100:225–230. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1000225>
- Authier M, Karine D, Guinet C (2011) Population trends of female Elephant Seals breeding on the Courbet Peninsula, Iles Kerguelen. *Polar Biology* 34:319–328. <https://doi.org/10.1007/s00300-010-0881-1>
- Avery JP, Zinn SA (2023) Extraordinary diversity of the pinniped lactation triad: lactation and growth strategies of seals, sea lions, fur seals, and walruses. *Animal Frontiers* 13:93–102. <https://doi.org/10.1093/af/vfad037>
- Baar K, Wende A, Jones T, et al (2003) Adaptations of skeletal muscle to exercise: Rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 16:1879–86. <https://doi.org/10.1096/fj.02-0367com>
- Badosa E, Pastor T, Gazo M, Aguilar A (2006) Moults in the Mediterranean monk seal from Cap Blanc, western Sahara. *African Zoology* 41:183–192. <https://doi.org/10.1080/15627020.2006.11407354>

- Bailleul F, Charrassin J-B, Monestiez P, et al (2007) Successful foraging zones of southern elephant seals from the Kerguelen Islands in relation to oceanographic conditions. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 362:2169–2181. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2109>
- Baird RW, Hanson MB, Dill LM (2005) Factors influencing the diving behaviour of fish-eating killer whales: sex differences and diel and interannual variation in diving rates. *Can J Zool* 83:257–267. <https://doi.org/10.1139/z05-007>
- Barja G (2007) Mitochondrial oxygen consumption and reactive oxygen species production are independently modulated: implications for aging studies. *Rejuvenation Res* 10:215–224. <https://doi.org/10.1089/rej.2006.0516>
- Barja G (2002) Rate of generation of oxidative stress-related damage and animal longevity. *Free Radical Biology and Medicine* 33:1167–1172. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00910-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00910-3)
- Barnes B (1989) Freeze avoidance in a mammal: Body temperatures below 0 degree C in an Arctic hibernator. *Science (New York, NY)* 244:1593–5. <https://doi.org/10.1126/science.2740905>
- Barre H, Roussel B (1986) Thermal and metabolic adaptation to first cold-water immersion in juvenile penguins. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 251:R456–R462. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1986.251.3.R456>
- Barreau E, Kato A, Chiaradia A, Ropert-Coudert Y (2021) The consequences of chaos: Foraging activity of a marine predator remains impacted several days after the end of a storm. *PLoS ONE* 16:e0254269. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0254269>
- Bartels H, Baumann R (1977) Respiratory function of hemoglobin. *Int Rev Physiol* 14:107–134
- Beck CA, Bowen WD, Iverson SJ (2003) Sex differences in the seasonal patterns of energy storage and expenditure in a phocid seal. *Journal of Animal Ecology* 72:280–291. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.2003.00704.x>
- Bekkby T, Bjørge A (2000) Diving behavior of harbor seal *Phoca vitulina* pups from nursing to independent feeding. *Journal of Sea Research* 44:267–275. [https://doi.org/10.1016/S1385-1101\(00\)00048-4](https://doi.org/10.1016/S1385-1101(00)00048-4)
- Beltran RS, Burns JM, Breed GA (2018) Convergence of biannual moulting strategies across birds and mammals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 285:20180318. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.0318>
- Beltran RS, Kirkham AL, Breed GA, et al (2019) Reproductive success delays moult phenology in a polar mammal. *Sci Rep* 9:5221. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41635-x>

- Bennett KA, Speakman JR, Moss SEW, et al (2007) Effects of mass and body composition on fasting fuel utilisation in grey seal pups (*Halichoerus grypus* Fabricius): an experimental study using supplementary feeding. *J Exp Biol* 210:3043–3053. <https://doi.org/10.1242/jeb.009381>
- Bester MN, Pansegrouw HM (1992) Ranging behaviour of southern elephant seal cows from Marion Island. *South African Journal of Science* 574–577
- Bishop A, Brown C, Rehberg M, et al (2018) Juvenile Steller sea lion (*Eumetopias jubatus*) utilization distributions in the Gulf of Alaska. *Mov Ecol* 6:6. <https://doi.org/10.1186/s40462-018-0124-6>
- Bishop CM, Butler PJ, El Haj AJ, et al (1996) The morphological development of the locomotor and cardiac muscles of the migratory barnacle goose (*Branta leucopsis*). *Journal of Zoology* 239:1–15. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1996.tb05432.x>
- Biuw M, McConnell B, Bradshaw CJA, et al (2003) Blubber and buoyancy: monitoring the body condition of free-ranging seals using simple dive characteristics. *Journal of Experimental Biology* 206:3405–3423. <https://doi.org/10.1242/jeb.00583>
- Blackwell SB, Le Boeuf BJ (1993) Developmental aspects of sleep apnoea in northern elephant seals, *Mirounga angustirostris*. *Journal of Zoology* 231:437–447. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1993.tb01930.x>
- Bland JM, Altman DG (1986) Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1:307–310
- Blix AS (2018) Adaptations to deep and prolonged diving in phocid seals. *Journal of Experimental Biology* 221:jeb182972. <https://doi.org/10.1242/jeb.182972>
- Boily P (1995) Theoretical heat flux in water and habitat selection of phocid seals and beluga whales during the annual molt. *Journal of Theoretical Biology* 172:235–244. <https://doi.org/10.1006/jtbi.1995.0020>
- Boness DJ, Don Bowen W (1996) The Evolution of Maternal Care in Pinnipeds: New findings raise questions about the evolution of maternal feeding strategies. *BioScience* 46:645–654. <https://doi.org/10.2307/1312894>
- Böning CW, Dispert A, Visbeck M, et al (2008) The response of the Antarctic Circumpolar Current to recent climate change. *Nature Geosci* 1:864–869. <https://doi.org/10.1038/ngeo362>
- Bourlière F (1975) Schmidt-Nielsen, K. *Animal Physiology-Adaptation and Environment*. London, Cambridge University Press, 1975. *Revue d'Écologie (La Terre et La Vie)* 29:490–491
- Bowen W (1991) Behavioural ecology of pinniped neonates. pp 66–127
- Bowen W, Beck CA, Austin DA (2009) Pinniped Ecology. In: *Encyclopedia of Marine Mammals*. pp 852–861

- Boyd I, Arnborn T, Fedak M (1993) Water Flux, Body Composition, and Metabolic Rate during Molt in Female Southern Elephant Seals (*Mirounga leonina*). *Physiological Zoology* 66:43–60. <https://doi.org/10.1086/physzool.66.1.30158286>
- Boyd I, Walker T, Poncet J (1996) Status of southern elephant seals at South Georgia. *Antarctic Science* 8:237–244. <https://doi.org/10.1017/S0954102096000338>
- Boyer BB, Barnes BM (1999) Molecular and Metabolic Aspects of Mammalian Hibernation: Expression of the hibernation phenotype results from the coordinated regulation of multiple physiological and molecular events during preparation for and entry into torpor. *BioScience* 49:713–724. <https://doi.org/10.2307/1313595>
- Bradshaw CJA, Hindell MA, Best NJ, et al (2003) You are what you eat: describing the foraging ecology of southern elephant seals (*Mirounga leonina*) using blubber fatty acids. *Proc R Soc Lond B* 270:1283–1292. <https://doi.org/10.1098/rspb.2003.2371>
- Brown D, Boyd I, Cripps G, Butler P (1999) Fatty acid signature analysis from the milk of Antarctic fur seals and Southern elephant seals from South Georgia: implications for diet determination. *Mar Ecol Prog Ser* 187:251–263. <https://doi.org/10.3354/meps187251>
- Bruyn D, Nico PJ (2009) Life history studies of the southern elephant seal population at Marion Island. Thesis, University of Pretoria
- Bunnell T (2009) Growth rate in early and late litters of the European hedgehog (*Erinaceus europaeus*) Toni Bunnell. *Lutra*
- Burger FA, Terhaar J, Frölicher TL (2022) Compound marine heatwaves and ocean acidity extremes. *Nat Commun* 13:4722. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32120-7>
- Burns J, Castellini M, Testa J (1999) Movements and diving behavior of weaned Weddell seal (*Leptonychotes weddelli*) pups. *Polar Biology* 21:23–36. <https://doi.org/10.1007/s003000050329>
- Calow P, Forbes VE (1998) How do physiological responses to stress translate into ecological and evolutionary processes? *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 120:11–16. [https://doi.org/10.1016/S1095-6433\(98\)10003-X](https://doi.org/10.1016/S1095-6433(98)10003-X)
- Calvin K, Dasgupta D, Krinner G, et al (2023) IPCC, 2023: Climate Change 2023: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, H. Lee and J. Romero (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)
- Campagna C, Fedak M, McConnell B (1999) Post-Breeding Distribution and Diving Behavior of Adult Male Southern Elephant Seals from Patagonia. *80:1341–1352*. <https://doi.org/10.2307/1383185>

- Campagna C, le Boeuf BJ (1988) Thermoregulatory behaviour of southern sea lions and its effect on mating strategies. *Behaviour* 107:72–90.
<https://doi.org/10.1163/156853988X00205>
- Campagna C, Lewis M, Baldi R (1993) BREEDING BIOLOGY OF SOUTHERN ELEPHANT SEALS IN PATAGONIA. *Marine Mammal Sci* 9:34–47. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1993.tb00424.x>
- Cannon WB (1929) Organization for physiological homeostasis. *Physiological Reviews* 9:399–431. <https://doi.org/10.1152/physrev.1929.9.3.399>
- Carapito C, Burel A, Guterl P, et al (2014) MSDA, a proteomics software suite for in-depth Mass Spectrometry Data Analysis using grid computing. *Proteomics* 14:.
<https://doi.org/10.1002/pmic.201300415>
- Carlini AR, Daneri GA, Márquez MEI, et al (2005) Food consumption estimates of southern elephant seal females during their post-breeding aquatic phase at King George Island. *Polar Biol* 28:769–775. <https://doi.org/10.1007/s00300-005-0004-6>
- Carlini AR, Marquez MEI, Daneri GA, Poljak S (1999) Mass changes during their annual cycle in females of southern elephant seals at King George Island. *Polar Biol* 21:234–239. <https://doi.org/10.1007/s0030000050358>
- Carlini AR, Márquez MEI, Ramdohr S, et al (2001) Postweaning Duration and Body Composition Changes in Southern Elephant Seal (*Mirounga leonina*) Pups at King George Island. *Physiological and Biochemical Zoology* 74:531–540.
<https://doi.org/10.1086/322168>
- Carlini AR, Márquez MEI, Panarello H, et al (2004) Lactation costs in southern elephant seals at King George Island, South Shetland Islands. *Polar Biology* 27:266–276.
<https://doi.org/10.1007/s00300-003-0584-y>
- Carlini AR, Panarello HO, Marquez MEI, et al (2000) Energy gain and loss during lactation and postweaning in southern elephant seal pups (*Mirounga leonina*) at King George Island. *Polar Biology* 23:437–440. <https://doi.org/10.1007/s0030000050465>
- Carter MID, McClintock BT, Embling CB, et al (2020) From pup to predator: generalized hidden Markov models reveal rapid development of movement strategies in a naïve long-lived vertebrate. *Oikos* 129:630–642. <https://doi.org/10.1111/oik.06853>
- Castellini MA, Kooyman GL, Ponganis PJ (1992) Metabolic rates of freely diving Weddell seals: correlations with oxygen stores, swim velocity and diving duration. *J Exp Biol* 165:181–194. <https://doi.org/10.1242/jeb.165.1.181>
- Castellini MA, Milsom WK, Berger RJ, et al (1994) Patterns of respiration and heart rate during wakefulness and sleep in elephant seal pups. *Am J Physiol* 266:R863-869.
<https://doi.org/10.1152/ajpregu.1994.266.3.R863>

- Catry P, Phillips RA, Phalan B, et al (2004) Foraging strategies of grey-headed albatrosses *Thalassarche chrysostoma*: integration of movements, activity and feeding events. *Marine Ecology Progress Series* 280:261–273
- Chaise LL, McCafferty DJ, Krellenstein A, et al (2019) Environmental and physiological determinants of huddling behavior of molting female southern elephant seals (*Mirounga leonina*). *Physiology & Behavior* 199:182–190. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.10.016>
- Chaise LL, Paterson W, Laske TG, et al (2017) Implantation of subcutaneous heart rate data loggers in southern elephant seals (*Mirounga leonina*). *Polar Biol* 40:2307–2312. <https://doi.org/10.1007/s00300-017-2144-x>
- Chaise LL, Prinet I, Toscani C, et al (2018) Local weather and body condition influence habitat use and movements on land of molting female southern elephant seals (*Mirounga leonina*). *Ecol Evol* 8:6081–6090. <https://doi.org/10.1002/ece3.4049>
- Chappell MA (1981) Standard operative temperatures and cost of thermoregulation in the arctic ground squirrel, *Spermophilus undulatus*. *Oecologia* 49:397–403. <https://doi.org/10.1007/BF00347606>
- Charlanne LM, Chaise L, Sornette D, et al (2024) Breaking the fast: first report of dives and ingestion events in molting southern elephant seals. *Commun Biol* 7:1–12. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-05720-2>
- Charrassin J-B, Kato A, Handrich Y, et al (2001) Feeding Behaviour of Free-Ranging Penguins Determined by Oesophageal Temperature. *Proceedings: Biological Sciences* 268:151–157
- Chazarin B, Ziemianin A, Evans AL, et al (2019) Limited Oxidative Stress Favors Resistance to Skeletal Muscle Atrophy in Hibernating Brown Bears (*Ursus Arctos*). *Antioxidants (Basel)* 8:334. <https://doi.org/10.3390/antiox8090334>
- Cherel Y, Charrassin JB, Challet E (1994) Energy and protein requirements for molt in the king penguin *Aptenodytes patagonicus*. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 266:R1182–R1188. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1994.266.4.R1182>
- Cherel Y, Ducatez S, Fontaine C, et al (2008) Stable isotopes reveal the trophic position and mesopelagic fish diet of female southern elephant seals breeding on the Kerguelen Islands. *Mar Ecol Prog Ser* 370:239–247. <https://doi.org/10.3354/meps07673>
- Cherel Y, Stahl J-C, Maho YL (1987) Ecology and Physiology of Fasting in King Penguin Chicks. *The Auk* 104:254–262. <https://doi.org/10.1093/auk/104.2.254>
- Chicco AJ, Le CH, Schlater AE, et al (2014) High fatty acid oxidation capacity and phosphorylation control despite elevated leak and reduced respiratory capacity in northern elephant seal muscle mitochondria. *Journal of Experimental Biology* jeb.105916. <https://doi.org/10.1242/jeb.105916>

- Choi IH, Cho Y, Oh YK, et al (1998) Behavior and muscle performance in heterothermic bats. *Physiol Zool* 71:257–266. <https://doi.org/10.1086/515915>
- Clark CA, Burns JM, Schreer JF, Hammill MO (2006) Erythropoietin concentration in developing harbor seals (*Phoca vitulina*). *General and Comparative Endocrinology* 147:262–267. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2006.01.009>
- Clobert J, Lebreton JD, Marzolin G (1990) The Estimation of Local Immature Survival Rate and of Age-Specific Proportions of Breeders in Bird Populations. In: Blondel J, Gosler A, Lebreton J-D, McCleery R (eds) *Population Biology of Passerine Birds*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 199–213
- Codde SA, Allen SG, Houser DS, Crocker DE (2016) Effects of environmental variables on surface temperature of breeding adult female northern elephant seals, *Mirounga angustirostris*, and pups. *Journal of Thermal Biology* 61:98–105. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2016.09.001>
- Cole LC (1954) The Population Consequences of Life History Phenomena. *The Quarterly Review of Biology* 29:103–137
- Condit R, Reiter J, Morris PA, et al (2014) Lifetime survival rates and senescence in northern elephant seals. *Marine Mammal Science* 30:122–138. <https://doi.org/10.1111/mms.12025>
- Cooper NW, Sherry TW, Marra PP (2015) Experimental reduction of winter food decreases body condition and delays migration in a long-distance migratory bird. *Ecology* 96:1933–1942. <https://doi.org/10.1890/14-1365.1>
- Costa DP, Boeuf BJL, Huntley AC, Ortiz CL (1986) The energetics of lactation in the Northern elephant seal, *Mirounga angustirostris*. *Journal of Zoology* 209:21–33. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1986.tb03563.x>
- Cotton CJ (2016) Skeletal muscle mass and composition during mammalian hibernation. *J Exp Biol* 219:226–234. <https://doi.org/10.1242/jeb.125401>
- Cox J, Hein MY, Luber CA, et al (2014) Accurate Proteome-wide Label-free Quantification by Delayed Normalization and Maximal Peptide Ratio Extraction, Termed MaxLFQ. *Mol Cell Proteomics* 13:2513–2526. <https://doi.org/10.1074/mcp.M113.031591>
- Cox SL, Authier M, Orgeret F, et al (2020) High mortality rates in a juvenile free-ranging marine predator and links to dive and forage ability. *Ecology and Evolution* 10:410–430. <https://doi.org/10.1002/ece3.5905>
- Crews D, Gillette R, Miller-Crews I, et al (2014) Nature, nurture and epigenetics. *Mol Cell Endocrinol* 398:42–52. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.07.013>
- Crocker D, Williams J, Costa D, Le Boeuf B (2001) Maternal Traits and Reproductive Effort in Northern Elephant Seals. *Ecology (Washington D C)* 82:3541–3555. <https://doi.org/10.2307/2680171>

- Crocker DE, Khudyakov JI, Champagne CD (2016) Oxidative stress in northern elephant seals: Integration of omics approaches with ecological and experimental studies. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 200:94–103. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2016.02.011>
- Croll DA, Tershy BR, Hewitt RP, et al (1998) An integrated approach to the foraging ecology of marine birds and mammals. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 45:1353–1371. [https://doi.org/10.1016/S0967-0645\(98\)00031-9](https://doi.org/10.1016/S0967-0645(98)00031-9)
- Currie JJ, van Aswegen M, Stack SH, et al (2021) Rapid weight loss in free ranging pygmy killer whales (*Feresa attenuata*) and the implications for anthropogenic disturbance of odontocetes. *Sci Rep* 11:8181. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87514-2>
- Dark J (2005) Annual lipid cycles in hibernators: integration of physiology and behavior. *Annu Rev Nutr* 25:469–497. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.25.050304.092514>
- Davis RW (2014) A review of the multi-level adaptations for maximizing aerobic dive duration in marine mammals: from biochemistry to behavior. *J Comp Physiol B* 184:23–53. <https://doi.org/10.1007/s00360-013-0782-z>
- Davis RW (2019) *Marine Mammals: Adaptations for an Aquatic Life*. Springer International Publishing, Cham
- Davis RW, Weihs D (2007) Locomotion in diving elephant seals: physical and physiological constraints. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 362:2141–2150. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.2107>
- Dawson WR, Evans FC (1960) Relation of Growth and Development to Temperature Regulation in Nestling Vesper Sparrows. *The Condor* 62:329–340. <https://doi.org/10.2307/1365163>
- de Hoon MJL, Imoto S, Nolan J, Miyano S (2004) Open source clustering software. *Bioinformatics* 20:1453–1454. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth078>
- de Kock L, Oosthuizen WC, Beltran RS, et al (2021) Determinants of moult haulout phenology and duration in southern elephant seals. *Sci Rep* 11:13331. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92635-9>
- Debecker S, Stoks R (2019) Pace of life syndrome under warming and pollution: integrating life history, behavior, and physiology across latitudes. *Ecological Monographs* 89:e01332. <https://doi.org/10.1002/ecm.1332>
- Deutsch C, Crocker D, Costa D, Le Boeuf B (2023) Sex- and Age-Related Variation in Reproductive Effort of Northern Elephant Seals. pp 169–210
- Deutsch CJ, Haley MP, Le Boeuf BJ (1990) Reproductive effort of male northern elephant seals: estimates from mass loss. *Can J Zool* 68:2580–2593. <https://doi.org/10.1139/z90-360>

- Dmitriew C, Rowe L (2005) Resource Limitation, Predation Risk and Compensatory Growth in a Damselfly. *Oecologia* 142:150–154
- Dobson FS (1995) Regulation of population size: evidence from Columbian ground squirrels. *Oecologia* 102:44–51. <https://doi.org/10.1007/BF00333309>
- Dodson SI, Allen TFH, Carpenter SR, et al (1999) READINGS IN ECOLOGY. *Ecology* 80:2848–2848
- Don Bowen W, Ellis SL, Iverson SJ, Boness DJ (2003) Maternal and newborn life-history traits during periods of contrasting population trends: implications for explaining the decline of harbour seals (*Phoca vitulina*), on Sable Island. *Journal of Zoology* 261:155–163. <https://doi.org/10.1017/S0952836903004047>
- Dunn P, Carter JF (2018) Good Practice Guide for Isotope Ratio Mass Spectrometry Second Edition 2018
- Easterling DR, Meehl GA, Parmesan C, et al (2000) Climate extremes: observations, modeling, and impacts. *Science* 289:2068–2074. <https://doi.org/10.1126/science.289.5487.2068>
- Eichhorn G, Groscolas R, Le Glaunec G, et al (2011) Heterothermy in growing king penguins. *Nat Commun* 2:435. <https://doi.org/10.1038/ncomms1436>
- Elsner R (1999) Living in water : solution to physiological problems
- Elsner R, Gooden B (1983) Diving and asphyxia. A comparative study of animals and man. *Monogr Physiol Soc* 40:1–168
- Elsner R, Hammond DD, Parker HR (1969) Circulatory responses to asphyxia in pregnant and fetal animals: a comparative study of Weddell seals and sheep. *Yale J Biol Med* 42:202–217
- Enstipp MR, Grémillet D, Jones DR (2006) The effects of depth, temperature and food ingestion on the foraging energetics of a diving endotherm, the double-crested cormorant (*Phalacrocorax auritus*). *J Exp Biol* 209:845–859. <https://doi.org/10.1242/jeb.02064>
- Fahlman A, Schmidt A, Handrich Y, et al (2005) Metabolism and thermoregulation during fasting in king penguins, *Aptenodytes patagonicus*, in air and water. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 289:R670–R679. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00130.2005>
- Falabella V, Campagna C (1999) Behaviour of southern elephant seal weanlings during the post-weaning fast in Patagonia. *Mammalia* 63:257–272. <https://doi.org/10.1515/mamm.1999.63.3.257>
- Fath BD (2018) *Encyclopedia of Ecology*. Elsevier

- Favilla A, Horning M, Costa D (2021) Advances in thermal physiology of diving marine mammals: The dual role of peripheral perfusion. *Temperature* 9:.
<https://doi.org/10.1080/23328940.2021.1988817>
- Favorit V, Hood WR, Kavazis AN, et al (2021) Mitochondrial Bioenergetics of Extramammary Tissues in Lactating Dairy Cattle. *Animals* 11:2647.
<https://doi.org/10.3390/ani11092647>
- Fedak MA, Arnbom T, Boyd IL (1996) The Relation between the Size of Southern Elephant Seal Mothers, the Growth of Their Pups, and the Use of Maternal Energy, Fat, and Protein during Lactation. *Physiological Zoology* 69:887–911.
<https://doi.org/10.1086/physzool.69.4.30164234>
- Feltz ET, Fay FH (1966) Thermal requirements in vitro of epidermal cells from seals. *Cryobiology* 3:261–264. [https://doi.org/10.1016/s0011-2240\(66\)80020-2](https://doi.org/10.1016/s0011-2240(66)80020-2)
- Field IC, Bradshaw CJA, Burton HR, Hindell MA (2005) Juvenile Southern Elephant Seals Exhibit Seasonal Differences in Energetic Requirements and Use of Lipids and Protein Stores. *Physiological and Biochemical Zoology* 78:491–504.
<https://doi.org/10.1086/430227>
- Foot AD, Liu Y, Thomas GWC, et al (2015) Convergent evolution of the genomes of marine mammals. *Nat Genet* 47:272–275. <https://doi.org/10.1038/ng.3198>
- Fowler M, Champagne C, Crocker D (2018) Adiposity and fat metabolism during combined fasting and lactation in elephant seals. *Journal of Experimental Biology* 221:jeb161554. <https://doi.org/10.1242/jeb.161554>
- Fowler MA, Debier C, Mignolet E, et al (2014) Fatty acid mobilization and comparison to milk fatty acid content in northern elephant seals. *J Comp Physiol B* 184:125–135.
<https://doi.org/10.1007/s00360-013-0787-7>
- Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, et al (1990) Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87:4533–4537. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.12.4533>
- Gaillard J-M, Festa-Bianchet M, Yoccoz NG, et al (2000) Temporal Variation in Fitness Components and Population Dynamics of Large Herbivores. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 31:367–393.
<https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.367>
- Gales R, Renouf D, Worthy GAJ (1994) USE OF BIOELECTRICAL IMPEDANCE ANALYSIS TO ASSESS BODY COMPOSITION OF SEALS. *Marine Mammal Sci* 10:1–12.
<https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1994.tb00385.x>
- Geiser F (2008) Ontogeny and phylogeny of endothermy and torpor in mammals and birds. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 150:176–180.
<https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2007.02.041>

- Geiser F, Brigham R (2012) The Other Functions of Torpor. pp 109–121
- Geiser F, Stawski C, Wacker CB, Nowack J (2017) Phoenix from the Ashes: Fire, Torpor, and the Evolution of Mammalian Endothermy. *Front Physiol* 8:.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00842>
- Geiser F, Wen J, Sukhchuluun G, et al (2019) Precocious Torpor in an Altricial Mammal and the Functional Implications of Heterothermy During Development. *Front Physiol* 10:.
<https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00469>
- Geiser F, Westman W, McAllan BM, Brigham RM (2006) Development of thermoregulation and torpor in a marsupial: energetic and evolutionary implications. *J Comp Physiol B* 176:107–116. <https://doi.org/10.1007/s00360-005-0026-y>
- Gentry RL, Kooyman GL (2014) *Fur Seals: Maternal Strategies on Land and at Sea*. Princeton University Press
- Gilbert C, McCafferty D, Le Maho Y, et al (2010) One for all and all for one: the energetic benefits of huddling in endotherms. *Biol Rev Camb Philos Soc* 85:545–569.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2009.00115.x>
- Gilbert C, McCafferty DJ, Giroud S, et al (2012) Private Heat for Public Warmth: How Huddling Shapes Individual Thermogenic Responses of Rabbit Pups. *PLOS ONE* 7:e33553. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0033553>
- Gille ST (2002) Warming of the Southern Ocean Since the 1950s. *Science* 295:1275–1277.
<https://doi.org/10.1126/science.1065863>
- Giroud S, Zahn S, Criscuolo F, et al (2014) Late-born intermittently fasted juvenile garden dormice use torpor to grow and fatten prior to hibernation: Consequences for ageing processes. *Proceedings Biological sciences / The Royal Society* 281:.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1131>
- GITTLEMAN JL, THOMPSON SD (1988) Energy Allocation in Mammalian Reproduction1. *American Zoologist* 28:863–875. <https://doi.org/10.1093/icb/28.3.863>
- Gluckman PD, Hanson MA, Spencer HG (2005a) Predictive adaptive responses and human evolution. *Trends in Ecology & Evolution* 20:527–533.
<https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.08.001>
- Gluckman PD, Hanson MA, Spencer HG, Bateson P (2005b) Environmental influences during development and their later consequences for health and disease: implications for the interpretation of empirical studies. *Proc Biol Sci* 272:671–677.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2004.3001>
- Gnaiger E (2003) Oxygen Conformance of Cellular Respiration: A perspective of mitochondrial physiology. In: Roach RC, Wagner PD, Hackett PH (eds) *Hypoxia*. Springer US, Boston, MA, pp 39–55

- Gnaiger E, Aasander Frostner E, Abdul Karim N, et al (2019) Mitochondrial respiratory states and rates. <https://doi.org/10.26124/MITOFIT:190001.V5>
- Goulet P, Guinet C, Swift R, et al (2019) A miniature biomimetic sonar and movement tag to study the biotic environment and predator-prey interactions in aquatic animals. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 148:1–11. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2019.04.007>
- Groscolas R (1978) Study of molt pasting followed by an experimental forced fasting in the emperor penguin *Aptenodytes forsteri*: Relationship between feather growth, body weight loss, body temperature and plasma fuel levels. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 61:287–295. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(78\)90111-1](https://doi.org/10.1016/0300-9629(78)90111-1)
- Guillemette M, Pelletier D, Grandbois J-M, Butler PJ (2007) Flightlessness and the energetic cost of wing molt in a large sea duck. *Ecology* 88:2936–2945. <https://doi.org/10.1890/06-1751.1>
- Guinet C (1992) Croissance des éléphants de mer de l'archipel Crozet (46°25' S, 51°45' E) pendant leur première année de vie. *56*:459–468. <https://doi.org/10.1515/mamm.1992.56.3.459>
- Guinet C, Roux JP, Bonnet M, Mison V (1998) Effect of body size, body mass, and body condition on reproduction of female South African fur seals (*Arctocephalus pusillus*) in Namibia. *Can J Zool* 76:1418–1424. <https://doi.org/10.1139/z98-082>
- Gutschick VP, BassiriRad H (2003) Extreme events as shaping physiology, ecology, and evolution of plants: toward a unified definition and evaluation of their consequences. *New Phytologist* 160:21–42. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00866.x>
- Gwynn AM (1953) The status of the leopard seal at Heard Island and Macquarie Island, 1948-1950. *A.N.A.R.E. Interim Report* 3:1-33
- Hansen PJ (2009) Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364:3341–3350. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0131>
- Harley CDG, Randall Hughes A, Hultgren KM, et al (2006) The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters* 9:228–241. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00871.x>
- Harvey BP, Gwynn-Jones D, Moore PJ (2013) Meta-analysis reveals complex marine biological responses to the interactive effects of ocean acidification and warming. *Ecol Evol* 3:1016–1030. <https://doi.org/10.1002/ece3.516>
- Harwood J, Prime JH (1978) Some Factors Affecting the Size of British Grey Seal Populations. *Journal of Applied Ecology* 15:401–411. <https://doi.org/10.2307/2402600>

- Hegy G, Nagy G, Török J (2012) Reduced compensatory growth capacity in mistimed broods of a migratory passerine. *Oecologia* 172:.. <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2487-5>
- Heldmaier G, Ortman S, Elvert R (2004) Natural hypometabolism during hibernation and daily torpor in mammals. *Respir Physiol Neurobiol* 141:317–329. <https://doi.org/10.1016/j.resp.2004.03.014>
- Hellebuyck T, Pasmans F, Haesebrouck F, Martel A (2012) Dermatological diseases in lizards. *Vet J* 193:38–45. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.02.001>
- Hindell M, Slip D, Burton H (1991) The Diving Behavior of Adult Male and Female Southern Elephant Seals, *Mirounga-leonina* (Pinnipedia, Phocidae). *Australian Journal of Zoology* 39:595–619. <https://doi.org/10.1071/Zo9910595>
- Hindell MA, Bryden MM, Burton HR (1994) Early Growth and Milk-Composition in Southern Elephant Seals (*Mirounga-leonina*). *Aust J Zool* 42:723–732. <https://doi.org/10.1071/zo9940723>
- Hindell MA, Burton HR (1988) Seasonal Haul-Out Patterns of the Southern Elephant Seal (*Mirounga leonina* L.), at Macquarie Island. *Journal of Mammalogy* 69:81–88. <https://doi.org/10.2307/1381750>
- Hindell MA, McConnell BJ, Fedak MA, et al (1999) Environmental and physiological determinants of successful foraging by naive southern elephant seal pups during their first trip to sea. 77:
- Hindell MA, Slip DJ, Burton HR, Bryden MM (1992a) Physiological implications of continuous, prolonged, and deep dives of the southern elephant seal (*Mirounga leonina*). *Can J Zool* 70:370–379. <https://doi.org/10.1139/z92-055>
- Hindell MA, Slip DJ, Burton HR, Bryden MM (1992b) Physiological implications of continuous, prolonged, and deep dives of the southern elephant seal (*Mirounga leonina*). *Can J Zool* 70:370–379. <https://doi.org/10.1139/z92-055>
- Hoelzl F, Cornils JS, Smith S, et al (2016) Telomere dynamics in free-living edible dormice (*Glis glis*): the impact of hibernation and food supply. *Journal of Experimental Biology* 219:2469–2474. <https://doi.org/10.1242/jeb.140871>
- Honarmand M, Goymann W, Naguib M (2010) Stressful Dieting: Nutritional Conditions but Not Compensatory Growth Elevate Corticosterone Levels in Zebra Finch Nestlings and Fledglings. *PLOS ONE* 5:e12930. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012930>
- Horning M, Trillmich F (1997a) Ontogeny of Diving Behaviour in the Galápagos Fur Seal. <https://doi.org/10.1163/156853997X00133>
- Horning M, Trillmich F (1997b) Development of Hemoglobin, Hematocrit, and Erythrocyte Values in Galápagos Fur Seals. *Marine Mammal Science* 13:100–113. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1997.tb00614.x>

- Horsburgh JM, Morrice M, Lea M, Hindell MA (2008) Determining feeding events and prey encounter rates in a southern elephant seal: a method using swim speed and stomach temperature. *Marine Mammal Science* 24:207–217. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2007.00156.x>
- Horton TH (1984) Growth and Reproductive Development of Male *Microtus montanus* is Affected by the Prenatal Photoperiod. *Biology of Reproduction* 31:499–504. <https://doi.org/10.1095/biolreprod31.3.499>
- Humphries M, Thomas D, Kramer D (2003) The Role of Energy Availability in Mammalian Hibernation: A Cost-Benefit Approach. *Physiological and Biochemical Zoology* 76:165–179. <https://doi.org/10.1086/367950>
- Igarza M, Dittmar T, Graco M, Niggemann J (2019) Dissolved Organic Matter Cycling in the Coastal Upwelling System Off Central Peru During an “El Niño” YearData_Sheet_1.pdf. *Frontiers in Marine Science* 6:. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00198>
- International Atomic Energy Agency (2001) GNIP Maps and Animations. <http://isohis.iaea.org>. Accessed 20 Aug 2024
- IPCC (2023) *Climate Change 2021 – The Physical Science Basis: Working Group I Contribution to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, 1st edn.* Cambridge University Press
- Jastroch M, Divakaruni AS, Mookerjee S, et al (2010) Mitochondrial proton and electron leaks. *Essays Biochem* 47:53–67. <https://doi.org/10.1042/bse0470053>
- Jefimow M, Głabska M, Wojciechowski MS (2011) Social thermoregulation and torpor in the Siberian hamster. *J Exp Biol* 214:1100–1108. <https://doi.org/10.1242/jeb.050823>
- Jin A-H, Qian Y-F, Ren J, et al (2023) PDK inhibition promotes glucose utilization, reduces hepatic lipid deposition, and improves oxidative stress in largemouth bass (*Micropterus salmoides*) by increasing pyruvate oxidative phosphorylation. *Fish & Shellfish Immunology* 140:108969. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108969>
- Johnson P, Elsner R, Zenteno-Savín T (2004) Hypoxia-Inducible Factor in ringed seal (*Phoca hispida*) tissues. *Free Radic Res* 38:847–854. <https://doi.org/10.1080/10715760410001725526>
- Johnson P, Elsner R, Zenteno-Savín T (2005) Hypoxia-inducible factor 1 proteomics and diving adaptations in ringed seal. *Free Radic Biol Med* 39:205–212. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.03.008>
- Jonker FC, Bester MN (1998) Seasonal movements and foraging areas of adult southern female elephant seals, *Mirounga leonina*, from Marion Island. *Antarctic science* 10:21–30. <https://doi.org/10.1017/S0954102098000042>

- Jonsson B, Jonsson N (2014) Early environment influences later performance in fishes. *Journal of Fish Biology* 85:151–188. <https://doi.org/10.1111/jfb.12432>
- Jørgensen C, Lydersen C, Brix O, Kovacs KM (2001) Diving development in nursing harbour seal pups. *Journal of Experimental Biology* 204:3993–4004. <https://doi.org/10.1242/jeb.204.22.3993>
- Jouma'a J, Orgeret F, Picard B, et al (2024) Contrasting offspring dependence periods and diving development rates in two closely related marine mammal species. *Royal Society Open Science* 11:230666. <https://doi.org/10.1098/rsos.230666>
- Kanatous S, Davis R, Watson R, et al (2003) Aerobic capacities in the skeletal muscles of Weddell seals: Key to longer dive durations? *The Journal of experimental biology* 205:3601–8. <https://doi.org/10.1242/jeb.205.23.3601>
- Kanatous SB, DiMichele LV, Cowan DF, Davis RW (1999) High aerobic capacities in the skeletal muscles of pinnipeds: adaptations to diving hypoxia. *Journal of Applied Physiology* 86:1247–1256. <https://doi.org/10.1152/jappl.1999.86.4.1247>
- Kanatous SB, Hawke TJ, Trumble SJ, et al (2008) The ontogeny of aerobic and diving capacity in the skeletal muscles of Weddell seals. *J Exp Biol* 211:2559–2565. <https://doi.org/10.1242/jeb.018119>
- Kanehisa M, Sato Y (2019) KEGG Mapper for inferring cellular functions from protein sequences. *Protein Science* 29:. <https://doi.org/10.1002/pro.3711>
- Khudyakov JI, Holser RR, Vierra CA, et al (2022) Changes in apolipoprotein abundance dominate proteome responses to prolonged fasting in elephant seals. *Journal of Experimental Biology* 225:jeb243572. <https://doi.org/10.1242/jeb.243572>
- Kim J, Tchernyshyov I, Semenza GL, Dang CV (2006) HIF-1-mediated expression of pyruvate dehydrogenase kinase: a metabolic switch required for cellular adaptation to hypoxia. *Cell Metab* 3:177–185. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2006.02.002>
- Kingma B, Frijns A, van Marken Lichtenbelt W (2012) The thermoneutral zone: implications for metabolic studies. *Front Biosci (Elite Ed)* 4:1975–1985. <https://doi.org/10.2741/e518>
- Kirsch PE, Iverson SJ, Bowen WD (2000) Effect of a Low-Fat Diet on Body Composition and Blubber Fatty Acids of Captive Juvenile Harp Seals (*Phoca groenlandica*). *Physiological and Biochemical Zoology* 73:45–59. <https://doi.org/10.1086/316723>
- Kjellén N (1994) Moulting in relation to migration in birds—a review. *Ornis Svecica* 4:1–24. <https://doi.org/10.34080/os.v4.23028>
- Kolaeva SG, Kramarova LI, Ilyasova EN, Ilyasov FE (1980) The Kinetics and Metabolism of the Cells of Hibernating Animals during Hibernation. In: Bourne GH, Danielli JF, Jeon KW (eds) *International Review of Cytology*. Academic Press, pp 147–170

- Kooyman G, Hunke E, Ackley S, et al (2000) Moulting of the emperor penguin: travel, location, and habitat selection. *Mar Ecol Prog Ser* 204:269–277. <https://doi.org/10.3354/meps204269>
- Kooyman GL (1966) Maximum diving capacities of the Weddell seal, *Leptonychotes weddelli*. *Science* 151:1553–1554. <https://doi.org/10.1126/science.151.3717.1553>
- Kooyman GL (2012) *Diverse Divers: Physiology and behavior*. Springer Science & Business Media
- Kooyman GL, Ponganis PJ (1998) The physiological basis of diving to depth: birds and mammals. *Annu Rev Physiol* 60:19–32. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.60.1.19>
- Kooyman GL, Wahrenbrock EA, Castellini MA, et al (1980) Aerobic and anaerobic metabolism during voluntary diving in Weddell seals: Evidence of preferred pathways from blood chemistry and behavior. *J Comp Physiol B* 138:335–346. <https://doi.org/10.1007/BF00691568>
- Korshunov SS, Skulachev VP, Starkov AA (1997) High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria. *FEBS Letters* 416:15–18. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)01159-9](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)01159-9)
- Kovacs K (2009) Maternal behaviour and early behavioural ontogeny of grey seals (*Halichoerus grypus*) on the Isle of May, UK. *Journal of Zoology* 213:697–715. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1987.tb03735.x>
- Kovacs K, Lavigne D (2011) Mass-transfer efficiency between hooded seal (*Cystophora cristata*) mothers and their pups in the Gulf of St. Lawrence. *Canadian Journal of Zoology* 70:1315–1320. <https://doi.org/10.1139/z92-184>
- Kovacs KM (1987a) Maternal behaviour and early behavioural ontogeny of grey seals (*Halichoerus grypus*) on the Isle of May, UK. *Journal of Zoology* 213:697–715. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1987.tb03735.x>
- Kovacs KM (1987b) Maternal behaviour and early behavioural ontogeny of harp seals, *Phoca groenlandica*. *Animal Behaviour* 35:844–855. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(87\)80120-3](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(87)80120-3)
- Kovacs KM, Lavigne DM (1986) Maternal Investment and Neonatal Growth in Phocid Seals. *Journal of Animal Ecology* 55:1035–1051. <https://doi.org/10.2307/4432>
- Kovacs KM, Lydersen C, Overland JE, Moore SE (2011) Impacts of changing sea-ice conditions on Arctic marine mammals. *Mar Biodiv* 41:181–194. <https://doi.org/10.1007/s12526-010-0061-0>
- Kroeker KJ, Kordas RL, Crim R, et al (2013) Impacts of ocean acidification on marine organisms: quantifying sensitivities and interaction with warming. *Glob Chang Biol* 19:1884–1896. <https://doi.org/10.1111/gcb.12179>

- Kuepper ND, Melber M, Kerth G (2016) Nightly clustering in communal roosts and the regular presence of adult females at night provide thermal benefits for juvenile Bechstein's bats. *Mammalian Biology* 81:201–204.
<https://doi.org/10.1016/j.mambio.2015.11.003>
- Kuhn CE, Costa DP (2006) Identifying and quantifying prey consumption using stomach temperature change in pinnipeds. *J Exp Biol* 209:4524–4532.
<https://doi.org/10.1242/jeb.02530>
- Kuhn CE, Crocker DE, Tremblay Y, Costa DP (2009) Time to eat: measurements of feeding behaviour in a large marine predator, the northern elephant seal *Mirounga angustirostris*. *Journal of Animal Ecology* 78:513–523.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2008.01509.x>
- Laborie J, Authier M, Chaigne A, et al (2023) Estimation of total population size of southern elephant seals (*Mirounga leonina*) on Kerguelen and Crozet Archipelagos using very high-resolution satellite imagery. *Front Mar Sci* 10:.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1149100>
- LaRosa DA, Cannata DJ, Arnould JPY, et al (2012) Changes in muscle composition during the development of diving ability in the Australian fur seal. *Aust J Zool* 60:81–90.
<https://doi.org/10.1071/ZO11072>
- Laws RM (1977) Seals and Whales of the Southern Ocean. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences* 279:81–96
- Lawson GL, Hückstädt LA, Lavery AC, et al (2015) Development of an animal-borne “sonar tag” for quantifying prey availability: test deployments on northern elephant seals. *Animal Biotelemetry* 3:22. <https://doi.org/10.1186/s40317-015-0054-7>
- Le Boeuf BJ, Blackwell SB, Morris PA, Thorson PH (1993) Sex differences in diving and foraging behaviour of northern elephant seals. *Marine Mammals: Advances in Behavioural and Population Biology*.
<https://doi.org/10.1093/oso/9780198540694.003.0009>.
- Le Boeuf BJ, Laws RM (1994) One. Elephant seals: an introduction to the genus. In: Le Boeuf BJ, Laws RM (eds) *Elephant Seals*. University of California Press, pp 1–26
- Le Maho Y, Delclitte P, Chatonnet J (1976) Thermoregulation in fasting emperor penguins under natural conditions. *American Journal of Physiology-Legacy Content* 231:913–922. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1976.231.3.913>
- Lee PC, Bussière LF, Webber CE, et al (2013) Enduring consequences of early experiences: 40 year effects on survival and success among African elephants (*Loxodonta africana*). *Biol Lett* 9:20130011. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2013.0011>
- Lee TN, Fridinger RW, Barnes BM, et al (2011) Estimating lean mass over a wide range of body composition: a calibration of deuterium dilution in the arctic ground squirrel:

- Isotope dilution calibration for arctic ground squirrels. *Rapid Commun Mass Spectrom* 25:3491–3496. <https://doi.org/10.1002/rcm.5253>
- Leech DI, Crick HQP (2007) Influence of climate change on the abundance, distribution and phenology of woodland bird species in temperate regions. *Ibis* 149:128–145. <https://doi.org/10.1111/j.1474-919X.2007.00729.x>
- Lenglart PY, Bester MN (1982) Post-weaning dispersion of southern elephant seal *Mirounga leonina* underyearlings at Kerguelen. *Revue d'Écologie* 36:175–186
- Lenihan C, Vuren D (1996) Growth and survival of juvenile yellow-bellied marmots (*Marmota flaviventris*). *Canadian Journal of Zoology* 74:297–302. <https://doi.org/10.1139/z96-037>
- Lepage D, Gauthier G, Reed A (1998) Seasonal variation in growth of greater snow goose goslings: the role of food supply. *Oecologia* 114:226–235. <https://doi.org/10.1007/s004420050440>
- Leung ES, Chilvers BL, Nakagawa S, Robertson BC (2014) Size and experience matter: diving behaviour of juvenile New Zealand sea lions (*Phocarctos hookeri*). *Polar Biol* 37:15–26. <https://doi.org/10.1007/s00300-013-1405-6>
- Levine RL, Williams JA, Stadtman EP, Shacter E (1994) [37] Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. In: *Methods in Enzymology*. Academic Press, pp 346–357
- Lewis M, Campagna C, Quintana F (1998) Estado actual y distribucion de la poblacion del elefante marino del sur en la peninsula Valdés, Argentina. *Mastozoologia Neotropical* 5:29–40
- Lewis M, Campagna C, Uhart M, Ortiz CL (2001) Ontogenic and seasonal variation in blood parameters in southern elephant seals. *Marine Mammal Sci* 17:862–872. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2001.tb01302.x>
- Lifson Nathan, Gordon GB, Visscher MB, Nier AO (1949) THE FATE OF UTILIZED MOLECULAR OXYGEN AND THE SOURCE OF THE OXYGEN OF RESPIRATORY CARBON DIOXIDE, STUDIED WITH THE AID OF HEAVY OXYGEN. *Journal of Biological Chemistry* 180:803–811. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)56700-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)56700-4)
- Lincoln DR, Edmunds DT, Gribble TJ, Schwartz HC (1973) Studies on the Hemoglobins of Pinnipeds. *Blood* 41:163–170. <https://doi.org/10.1182/blood.V41.1.163.163>
- Lindström J (1999) Early development and fitness in birds and mammals. *Trends Ecol Evol* 14:343–348. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(99\)01639-0](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(99)01639-0)
- Ling JK (1970) Pelage and Molting in Wild Mammals with Special Reference to Aquatic Forms. *The Quarterly Review of Biology* 45:16–54. <https://doi.org/10.1086/406361>

- Little G (2006) Body temperature in the newborn southern elephant seal, *Mirounga leonina*, at Macquarie Island. *Marine Mammal Science* 11:480–490. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1995.tb00671.x>
- Liu J, Xue J, Zhang H, et al (2015) Cloning, expression, and purification of cold inducible RNA-binding protein and its neuroprotective mechanism of action. *Brain Res* 1597:189–195. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.11.061>
- Liwanag HEM, Berta A, Costa DP, et al (2012) Morphological and thermal properties of mammalian insulation: the evolution of fur for aquatic living. *Biological Journal of the Linnean Society* 106:926–939. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2012.01900.x>
- Lou R, Cao Y, Li S, et al (2023) Benchmarking commonly used software suites and analysis workflows for DIA proteomics and phosphoproteomics. *Nat Commun* 14:94. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35740-1>
- Love S (1999) Oxidative Stress in Brain Ischemia. *Brain Pathology* 9:119–131. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1999.tb00214.x>
- Lubcker N, Reisinger RR, Oosthuizen WC, et al (2017) Low trophic level diet of juvenile southern elephant seals *Mirounga leonina* from Marion Island : a stable isotope investigation using vibrissal regrowths. <https://doi.org/10.3354/meps12240>
- Macmillen RE (1965) Aestivation in the cactus mouse, *Peromyscus eremicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 16:227–248. [https://doi.org/10.1016/0010-406X\(65\)90062-9](https://doi.org/10.1016/0010-406X(65)90062-9)
- Mahlert B, Gerritsmann H, Stalder G, et al (2018) Implications of being born late in the active season for growth, fattening, torpor use, winter survival and fecundity. *Elife* 7:e31225. <https://doi.org/10.7554/eLife.31225>
- Mangel M, Clark CW (1986) Towards a Unifield Foraging Theory -. *Ecology* 1127–1138
- Marchetti K, Price T (1989) Differences in the Foraging of Juvenile and Adult Birds: The Importance of Developmental Constraints. *Biological Reviews* 64:51–70. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1989.tb00638.x>
- Martens GA, Folkow LP, Burmester T, Geßner C (2022) Elevated antioxidant defence in the brain of deep-diving pinnipeds. *Front Physiol* 13:. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1064476>
- Martin P (1984) The meaning of weaning. *Animal Behaviour* 32:1257–1259. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(84\)80245-6](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(84)80245-6)
- Mata AJ, Caloin M, Robin J, Le Maho Y (2006) Reliability in Estimates of Body Composition of Birds: Oxygen-18 versus Deuterium Dilution. *Physiological and Biochemical Zoology* 79:202–209. <https://doi.org/10.1086/498354>

- Mauck B, Bilgmann K, Jones DD, et al (2003) Thermal windows on the trunk of hauled-out seals: hot spots for thermoregulatory evaporation? *Journal of Experimental Biology* 206:1727–1738. <https://doi.org/10.1242/jeb.00348>
- Maurel D, Coutant C, Boissin-Agasse L, Boissin J (1986) Seasonal moulting patterns in three fur bearing mammals: the European badger (*Meles meles* L.), the red fox (*Vulpes vulpes* L.), and the mink (*Mustela vison*). A morphological and histological study. *Can J Zool* 64:1757–1764. <https://doi.org/10.1139/z86-265>
- Mawson D (1934) The Kerguelen Archipelago. *The Geographical Journal* 83:18–27. <https://doi.org/10.2307/1786659>
- McAdam AG, Millar JohNS (1999) Dietary protein constraint on age at maturity: an experimental test with wild deer mice. *Journal of Animal Ecology* 68:733–740. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2656.1999.00320.x>
- McCann T, Fedak M, Harwood J (1989) Parental investment in southern elephant seals, *Mirounga leonina*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 25:81–87. <https://doi.org/10.1007/BF00302924>
- McConnell B, Fedak Mike, Burton HR, et al (2002) Movements and foraging areas of naive, recently weaned southern elephant seal pups. *J Anim Ecology* 71:65–78. <https://doi.org/10.1046/j.0021-8790.2001.00576.x>
- Mcdonald B, Crocker D, Burns J, Costa D (2007) Body condition as an index of winter foraging success in crabeater seals (*Lobodon carcinophaga*). *Deep Sea ResII* 55:515–522
- McDonald BI, Crocker DE (2006) Physiology and Behavior Influence Lactation Efficiency in Northern Elephant Seals (*Mirounga angustirostris*). *Physiological and Biochemical Zoology* 79:484–496. <https://doi.org/10.1086/501056>
- McInnes AM, McGeorge C, Ginsberg S, et al (2017) Group foraging increases foraging efficiency in a piscivorous diver, the African penguin. *Royal Society Open Science* 4:170918. <https://doi.org/10.1098/rsos.170918>
- McIntyre T, De Bruyn PJN, Ansorge IJ, et al (2010) A lifetime at depth: vertical distribution of southern elephant seals in the water column. *Polar Biol* 33:1037–1048. <https://doi.org/10.1007/s00300-010-0782-3>
- McMahon CR, Burton H, McLean S, et al (2000) Field immobilisation of southern elephant seals with intravenous tiletamine and zolazepam. *Vet Rec* 146:251–254. <https://doi.org/10.1136/vr.146.9.251>
- McMahon CR, Burton HR (2005) Climate change and seal survival: evidence for environmentally mediated changes in elephant seal, *Mirounga leonina*, pup survival. *Proc Biol Sci* 272:923–928. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.3038>

- McMahon CR, Hindell MA, Charrassin J-B, et al (2019) Finding mesopelagic prey in a changing Southern Ocean. *Sci Rep* 9:19013. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55152-4>
- McQuaid C (2023) Understanding the effects of climate change on Southern Ocean ecosystems. *African Journal of Marine Science* 45:155–163. <https://doi.org/10.2989/1814232X.2023.2239871>
- Meier F, Brunner A-D, Frank M, et al (2020) diaPASEF: parallel accumulation-serial fragmentation combined with data-independent acquisition. *Nat Methods* 17:1229–1236. <https://doi.org/10.1038/s41592-020-00998-0>
- Meier F, Brunner A-D, Koch S, et al (2018) Online Parallel Accumulation–Serial Fragmentation (PASEF) with a Novel Trapped Ion Mobility Mass Spectrometer*. *Molecular & Cellular Proteomics* 17:2534–2545. <https://doi.org/10.1074/mcp.TIR118.000900>
- Meir JU, Champagne CD, Costa DP, et al (2009) Extreme hypoxemic tolerance and blood oxygen depletion in diving elephant seals. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 297:R927–939. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00247.2009>
- Mellish J, Nienaber J, Polasek L, Horning M (2013) Beneath the surface: Profiling blubber depth in pinnipeds with infrared imaging. *Journal of Thermal Biology* 38:10–13. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2012.09.003>
- Mendl M, Deag JM (1995) How useful are the concepts of alternative strategy and coping strategy in applied studies of social behaviour? *Applied Animal Behaviour Science* 44:119–137. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(95\)00609-V](https://doi.org/10.1016/0168-1591(95)00609-V)
- Metcalfe NB, Monaghan P (2001) Compensation for a bad start: grow now, pay later? *Trends in Ecology & Evolution* 16:254–260. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02124-3](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02124-3)
- Meyers LA, Bull JJ (2002) Fighting change with change: adaptive variation in an uncertain world. *Trends in Ecology & Evolution* 17:551–557. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(02\)02633-2](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(02)02633-2)
- Millikan GA, Barcroft J (1937) Experiments on muscle haemoglobin in vivo; the instantaneous measurement of muscle metabolism. *Proceedings of the Royal Society of London Series B - Biological Sciences* 123:218–241. <https://doi.org/10.1098/rspb.1937.0052>
- Mitchell JFB, Lowe J, Wood RA, Vellinga M (2006) Extreme events due to human-induced climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 364:2117–2133. <https://doi.org/10.1098/rsta.2006.1816>
- Mitchell P (1961) Coupling of Phosphorylation to Electron and Hydrogen Transfer by a Chemi-Osmotic type of Mechanism. *Nature* 191:144–148. <https://doi.org/10.1038/191144a0>

- Modig A, Engström H, Arnbom T (1997) Postweaning behaviour in pups of the southern elephant seal (*Mirounga leonina*) on South Georgia. *Can J Zool* 75:582–588. <https://doi.org/10.1139/z97-072>
- Moe B, Brunvoll S, Mork D, et al (2004) Developmental plasticity of physiology and morphology in diet-restricted European shag nestlings (*Phalacrocorax aristotelis*). *J Exp Biol* 207:4067–4076. <https://doi.org/10.1242/jeb.01226>
- Monaghan P (2008) Early growth conditions, phenotypic development and environmental change. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 363:1635–1645. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.0011>
- Monternier P-A, Marmillot V, Rouanet J-L, Roussel D (2014) Mitochondrial phenotypic flexibility enhances energy savings during winter fast in king penguin chicks. *Journal of Experimental Biology* 217:2691–2697. <https://doi.org/10.1242/jeb.104505>
- Montiglio P-O, Dammhahn M, Dubuc Messier G, Réale D (2018) The pace-of-life syndrome revisited: the role of ecological conditions and natural history on the slow-fast continuum. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 72:116. <https://doi.org/10.1007/s00265-018-2526-2>
- Montiglio P-O, Garant D, Bergeron P, et al (2014) Pulsed resources and the coupling between life-history strategies and exploration patterns in eastern chipmunks (*Tamias striatus*). *J Anim Ecol* 83:720–728. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12174>
- Moore CD, Crocker DE, Fahlman A, et al (2014) Ontogenetic changes in skeletal muscle fiber type, fiber diameter and myoglobin concentration in the Northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*). *Front Physiol* 5:217. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00217>
- Morales AE, Pérez-Jiménez A, Carmen Hidalgo M, et al (2004) Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 139:153–161. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.10.008>
- Morrison P (1962) Modification of Body Temperature by Activity in Brazilian Hummingbirds. *The Condor* 64:315–323. <https://doi.org/10.2307/1365371>
- Mota JL, Brown DJ, Canning DM, et al (2021) Influence of landscape condition on relative abundance and body condition of two generalist freshwater turtle species. *Ecology and Evolution* 11:5511–5521. <https://doi.org/10.1002/ece3.7450>
- Mueller T, O’Hara RB, Converse SJ, et al (2013) Social Learning of Migratory Performance. *Science* 341:999–1002. <https://doi.org/10.1126/science.1237139>
- Mumby HS, Mar KU, Thitaram C, et al (2015) Stress and body condition are associated with climate and demography in Asian elephants. *Conserv Physiol* 3:cov030. <https://doi.org/10.1093/conphys/cov030>

- Mungai PT, Waypa GB, Jairaman A, et al (2011) Hypoxia triggers AMPK activation through reactive oxygen species-mediated activation of calcium release-activated calcium channels. *Mol Cell Biol* 31:3531–3545. <https://doi.org/10.1128/MCB.05124-11>
- Murie JO, Boag DA (1984) The Relationship of Body Weight to Overwinter Survival in Columbian Ground Squirrels. *Journal of Mammalogy* 65:688–690. <https://doi.org/10.2307/1380854>
- Murphy BJ, Hochachka PW (1981) Free amino acid profiles in blood during diving and recovery in the Antarctic Weddell seal. *Can J Zool* 59:455–459. <https://doi.org/10.1139/z81-066>
- Nadel ER (1984) Energy exchanges in water. *Undersea Biomed Res* 11:149–158
- Nagel A (1977) Torpor in the European white-toothed shrews. *Experientia* 33:1455–1456. <https://doi.org/10.1007/BF01918804>
- Nagel R, Mews S, Adam T, et al (2021) Movement patterns and activity levels are shaped by the neonatal environment in Antarctic fur seal pups. *Sci Rep* 11:14323. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93253-1>
- Nager RG, Van Noordwijk AJ (1995) Proximate and ultimate aspects of phenotypic plasticity in timing of great tit breeding in a heterogeneous environment. *American Naturalist* 146:454–474. <https://doi.org/10.1086/285809>
- Nel W, Hedding DW, Rudolph EM (2023) The sub-Antarctic islands are increasingly warming in the 21st century. *Antarctic Science* 35:124–126. <https://doi.org/10.1017/S0954102023000056>
- Nelson RJ, Dark J, Zucker I (1983) Influence of photoperiod, nutrition and water availability on reproduction of male California voles (*Microtus californicus*). *J Reprod Fertil* 69:473–477. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0690473>
- Nettle D, Frankenhuis WE, Rickard IJ (2013) The evolution of predictive adaptive responses in human life history. *Proc Biol Sci* 280:20131343. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1343>
- Newby J, Wacher T, Durant S, et al (2016) Desert Antelopes on the Brink: How Resilient is the Sahelo-Saharan Ecosystem? pp 253–279
- Newland C, Field I, Cherel Y, et al (2011) Diet of juvenile southern elephant seals reappraised by stable isotopes in whiskers. *Marine Ecology - Progress Series* 424:247–258. <https://doi.org/10.3354/meps08769>
- Newton I (2009) Moults and plumage. *Ringed & Migration* 24:1–10. <https://doi.org/10.1080/03078698.2009.9674395>
- Nikolaidis MG, Jamurtas AZ, Paschalis V, et al (2008) The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course

- considerations. *Sports Med* 38:579–606. <https://doi.org/10.2165/00007256-200838070-00005>
- Nordøy ES, Stijfhoorn DE, Råheim A, Blix AS (1992) Water flux and early signs of entrance into phase 111 of fasting in grey seal pups. *Acta Physiologica Scandinavica* 144:477–482. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1992.tb09324.x>
- Noren S, Iverson S, Boness D (2005) Development of the Blood and Muscle Oxygen Stores in Gray Seals (*Halichoerus grypus*): Implications for Juvenile Diving Capacity and the Necessity of a Terrestrial Postweaning Fast. *Physiological and biochemical zoology* : PBZ 78:482–90. <https://doi.org/10.1086/430228>
- Noren SR, Boness DJ, Iverson SJ, et al (2008) Body Condition at Weaning Affects the Duration of the Postweaning Fast in Gray Seal Pups (*Halichoerus grypus*). *Physiological and Biochemical Zoology* 81:269–277. <https://doi.org/10.1086/528777>
- Noren SR, Williams TM, Pabst DA, et al (2001) The development of diving in marine endotherms: preparing the skeletal muscles of dolphins, penguins, and seals for activity during submergence. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 171:127–134. <https://doi.org/10.1007/s003600000161>
- Nowack J, Geiser F (2016) Friends with benefits: the role of huddling in mixed groups of torpid and normothermic animals. *Journal of Experimental Biology* 219:590–596. <https://doi.org/10.1242/jeb.128926>
- Nowack J, Tarmann I, Hoelzl F, et al (2019) Always a price to pay: hibernation at low temperatures comes with a trade-off between energy savings and telomere damage. *Biology Letters* 15:20190466. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2019.0466>
- Oarga A (2009) Life in extreme environments. *Revista de Biologia e Ciências da Terra* 9:1–10
- Oli M, Dobson F (1999) Population Cycles in Small Mammals: The Role of Age at Sexual Maturity. *Oikos* 86:557–565. <https://doi.org/10.2307/3546660>
- Oli MK, Dobson FS (2003) The relative importance of life-history variables to population growth rate in mammals: Cole's prediction revisited. *Am Nat* 161:422–440. <https://doi.org/10.1086/367591>
- Oli MK, Dobson FS (2001) Population Cycles in Small Mammals: The α -Hypothesis. *Journal of Mammalogy* 82:573–581
- Olianas A, Sanna maria teresa, Fais A, et al (2000) Functional Properties of the Cathodic Hemoglobin Component from Two Species of Anguilliformes. pp 61–69
- Orgeret F, Cox SL, Weimerskirch H, Guinet C (2019a) Body condition influences ontogeny of foraging behavior in juvenile southern elephant seals. *Ecology and Evolution* 9:223–236. <https://doi.org/10.1002/ece3.4717>

- Orgeret F, Cox SL, Weimerskirch H, Guinet C (2019b) Body condition influences ontogeny of foraging behavior in juvenile southern elephant seals. *Ecology and Evolution* 9:223–236. <https://doi.org/10.1002/ece3.4717>
- Orgeret F, Péron C, Enstipp MR, et al (2019c) Exploration during early life: distribution, habitat and orientation preferences in juvenile king penguins. *Mov Ecol* 7:29. <https://doi.org/10.1186/s40462-019-0175-3>
- Orgeret F, Weimerskirch H, Bost C-A (2016) Early diving behaviour in juvenile penguins: improvement or selection processes. *Biology Letters* 12:20160490. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2016.0490>
- Orlowsky B, Seneviratne SI (2012) Global changes in extreme events: regional and seasonal dimension. *Climatic Change* 110:669–696. <https://doi.org/10.1007/s10584-011-0122-9>
- Orr AL, Lohse LA, Drew KL, Hermes-Lima M (2009) Physiological oxidative stress after arousal from hibernation in Arctic ground squirrel. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 153:213–221. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2009.02.016>
- Ortiz C, Costa D, Le Boeuf B (1978) Water and Energy Flux in Elephant Seal Pups Fasting under Natural Conditions. *Physiological Zoology* 51:166–178. <https://doi.org/10.1086/physzool.51.2.30157864>
- Ortiz CL, Costa D, Le Boeuf BJ Water and Energy Flux in Elephant Seal Pups Fasting under Natural Conditions | *Physiological Zoology*: Vol 51, No 2. <https://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/physzool.51.2.30157864>. Accessed 19 Sep 2023
- Pacoureaux N, Authier M, Delord K, et al (2017) Early-life density-dependence effects on growth and survival in subantarctic fur seals. *Popul Ecol* 59:139–155. <https://doi.org/10.1007/s10144-017-0573-6>
- Page RD (1996) TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Comput Appl Biosci* 12:357–358. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/12.4.357>
- Painter R, Osmond C, Gluckman P, et al (2008) Transgenerational effects of prenatal exposure to the Dutch famine on neonatal adiposity and health in later life. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 115:1243–1249. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2008.01822.x>
- Parker N, Vidal-Puig A, Brand MD (2008) Stimulation of mitochondrial proton conductance by hydroxynonenal requires a high membrane potential. *Bioscience Reports* 28:83–88. <https://doi.org/10.1042/BSR20080002>
- Parson ECM (2013) *An Introduction to Marine Mammal Biology and Conservation - Marine Mammal Science*

- Pascual P, Pedrajas JR, Toribio F, et al (2003) Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*). *Chemico-Biological Interactions* 145:191–199. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(03\)00002-4](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(03)00002-4)
- Paterson WD, Moss SE, Milne R, et al (2021) Increased Metabolic Rate of Hauled-Out Harbor Seals (*Phoca vitulina*) during the Molt. *Physiological and Biochemical Zoology* 94:152–161. <https://doi.org/10.1086/713958>
- Payne EH, Gebregziabher M, Hardin JW, et al (2018) An empirical approach to determine a threshold for assessing overdispersion in Poisson and negative binomial models for count data. *Communications in Statistics - Simulation and Computation* 47:1722–1738. <https://doi.org/10.1080/03610918.2017.1323223>
- Penney RL (1967) Molt in the Adelie Penguin. *The Auk* 84:61–71. <https://doi.org/10.2307/4083255>
- Perez-Riverol Y, Bai J, Bandla C, et al (2022) The PRIDE database resources in 2022: a hub for mass spectrometry-based proteomics evidences. *Nucleic Acids Res* 50:D543–D552. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1038>
- Perrin WF, Würsig B, Thewissen JGM (2009) *Encyclopedia of Marine Mammals*. Academic Press
- Pesta D, Gnaiger E (2012) High-Resolution Respirometry: OXPHOS Protocols for Human Cells and Permeabilized Fibers from Small Biopsies of Human Muscle. In: Palmeira CM, Moreno AJ (eds) *Mitochondrial Bioenergetics*. Humana Press, Totowa, NJ, pp 25–58
- Piatkowski U, Vergani DF, Stanganelli ZB (2002) Changes in the cephalopod diet of southern elephant seal females at King George Island, during El Niño-La Niña events. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 82:913–916. <https://doi.org/10.1017/S0025315402006343>
- Pigliucci M, Murren CJ, Schlichting CD (2006) Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology* 209:2362–2367. <https://doi.org/10.1242/jeb.02070>
- Piot E, Hippauf L, Charlanne L, et al (2024) From land to ocean: One month for southern elephant seal pups to acquire aquatic skills prior to their first departure to sea. *Physiol Behav* 279:114525. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2024.114525>
- Pistorius P, Bester M, Lewis M, et al (2004) Adult female survival, population trend, and the implications of early primiparity in a capital breeder, the southern elephant seal (*Mirounga leonina*). *Journal of Zoology* 263:107–119. <https://doi.org/10.1017/S0952836904004984>
- Pistorius P, De Bruyn N, Bester M (2011) Population dynamics of southern elephant seals: A synthesis of three decades of demographic research at Marion Island. *African Journal of Marine Science* 33:523–534. <https://doi.org/10.2989/1814232X.2011.637357>

- Pistorius PA, Bester MN (2002) Juvenile survival and population regulation in southern elephant seals at Marion Island. *African Zoology* 37:35–41. <https://doi.org/10.10520/EJC17815>
- Plot V, Jenkins T, Robin J-P, et al (2013) Leatherback turtles are capital breeders: morphometric and physiological evidence from longitudinal monitoring. *Physiol Biochem Zool* 86:385–397. <https://doi.org/10.1086/671127>
- Ponganis PJ (2015) *Diving Physiology of Marine Mammals and Seabirds*. Cambridge University Press, Cambridge
- Ponganis PJ, Starke LN, Horning M, Kooyman GL (1999) Development of diving capacity in emperor penguins. *Journal of Experimental Biology* 202:781–786. <https://doi.org/10.1242/jeb.202.7.781>
- Prewitt JS, Freistroffer DV, Schreer JF, et al (2010) Postnatal development of muscle biochemistry in nursing harbor seal (*Phoca vitulina*) pups: limitations to diving behavior? *J Comp Physiol B* 180:757–766. <https://doi.org/10.1007/s00360-010-0448-z>
- Promislow DEL, Harvey PH (1990) Living fast and dying young: A comparative analysis of life-history variation among mammals. *Journal of Zoology* 220:417–437. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1990.tb04316.x>
- Pütz K, Wilson RP, Charrassin J-B, et al (1998) Foraging Strategy of King Penguins (apterodactyls Patagonicus) During Summer at the Crozet Islands. *Ecology* 79:1905–1921. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(1998\)079\[1905:FSOKPA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(1998)079[1905:FSOKPA]2.0.CO;2)
- Quinney TE, Hussell DJT, Ankney CD (1986) Sources of Variation in Growth of Tree Swallows. *The Auk* 103:389–400
- Qvist J, Weber RE, Zapol WM (1981) Oxygen equilibrium properties of blood and hemoglobin of fetal and adult Weddell seals. *Journal of Applied Physiology*. <https://doi.org/10.1152/jappl.1981.50.5.999>
- R Core Team R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2022. <https://www.bibsonomy.org/bibtex/7469ffee3b07f9167cf47e7555041ee7>. Accessed 25 Apr 2024
- Réale D, Garant D, Humphries MM, et al (2010) Personality and the emergence of the pace-of-life syndrome concept at the population level. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 365:4051–4063. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0208>
- Reid JM, Bignal EM, Bignal S, et al (2003) Environmental Variability, Life-History Covariation and Cohort Effects in the Red-Billed Chough *Pyrrhocorax pyrrhocorax*. *Journal of Animal Ecology* 72:36–46

- Reilly JJ, Fedak MA (1990) Measurement of the body composition of living gray seals by hydrogen isotope dilution. *Journal of Applied Physiology* 69:885–891. <https://doi.org/10.1152/jappl.1990.69.3.885>
- Reisinger R, De Bruyn P, Bester M (2011) Abundance estimates of killer whales at -subantarctic Marion Island. *Aquat Biol* 12:177–185. <https://doi.org/10.3354/ab00340>
- Reiter J, Panken KJ, Le Boeuf BJ (1981) Female competition and reproductive success in northern elephant seals. *Animal Behaviour* 29:670–687. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(81\)80002-4](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(81)80002-4)
- Reiter J, Stinson NL, Le Boeuf BJ (1978a) Northern elephant seal development: The transition from weaning to nutritional independence. *Behav Ecol Sociobiol* 3:337–367. <https://doi.org/10.1007/BF00303199>
- Reiter J, Stinson NL, Le Boeuf BJ (1978b) Northern elephant seal development: The transition from weaning to nutritional independence. *Behav Ecol Sociobiol* 3:337–367. <https://doi.org/10.1007/BF00303199>
- Rembauville M, Briggs N, Ardyna M, et al (2017) Plankton Assemblage Estimated with BGC-Argo Floats in the Southern Ocean: Implications for Seasonal Successions and Particle Export. *Journal of Geophysical Research (Oceans)* 122:8278–8292. <https://doi.org/10.1002/2017JC013067>
- Richard G, Vacquié-Garcia J, Jouma'a J, et al (2014) Variation in body condition during the post-moult foraging trip of southern elephant seals and its consequences on diving behaviour. *Journal of Experimental Biology* jeb.088542. <https://doi.org/10.1242/jeb.088542>
- Rickard IJ, Courtiol A, Prentice AM, et al (2012) Intergenerational effects of maternal birth season on offspring size in rural Gambia. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 279:4253–4262. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1363>
- Ridgway SH, Harrison RJ, Joyce PL (1975) Sleep and cardiac rhythm in the gray seal. *Science* 187:553–555. <https://doi.org/10.1126/science.163484>
- Ringsby TH, Sæther B-E, Solberg EJ (1998) Factors Affecting Juvenile Survival in House Sparrow *Passer domesticus*. *Journal of Avian Biology* 29:241–247. <https://doi.org/10.2307/3677106>
- Rivett AJ (1985) Preferential degradation of the oxidatively modified form of glutamine synthetase by intracellular mammalian proteases. *Journal of Biological Chemistry* 260:300–305. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)89731-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)89731-9)
- Roberts LJ, Morrow JD (2000) Measurement of F2-isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo. *Free Radical Biology and Medicine* 28:505–513. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(99\)00264-6](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(99)00264-6)

- Robin J-P, Boucontet L, Chillet P, Groscolas R (1998) Behavioral changes in fasting emperor penguins: evidence for a “refeeding signal” linked to a metabolic shift. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 274:R746–R753. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1998.274.3.R746>
- Robinson PW, Costa DP, Crocker DE, et al (2012) Foraging behavior and success of a mesopelagic predator in the northeast Pacific Ocean: insights from a data-rich species, the northern elephant seal. *PLoS One* 7:e36728. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036728>
- Rodenburg TB (2014) The role of genes, epigenetics and ontogeny in behavioural development. *Applied Animal Behaviour Science* 157:8–13. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2014.06.002>
- Roff D (1993) *Evolution Of Life Histories: Theory and Analysis*. Springer Science & Business Media
- Rolfe DF, Brand MD (1996) Contribution of mitochondrial proton leak to skeletal muscle respiration and to standard metabolic rate. *Am J Physiol* 271:C1380-1389. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.1996.271.4.C1380>
- Rotics S, Kaatz M, Resheff YS, et al (2016) The challenges of the first migration: movement and behaviour of juvenile vs. adult white storks with insights regarding juvenile mortality. *J Anim Ecol* 85:938–947. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12525>
- Roussel D, Marmillot V, Monternier P-A, et al (2020) Skeletal muscle metabolism in sea-acclimatized king penguins. II. Improved efficiency of mitochondrial bioenergetics. *J Exp Biol* 223:jeb233684. <https://doi.org/10.1242/jeb.233684>
- Ruf T, Geiser F (2015) Daily torpor and hibernation in birds and mammals. *Biol Rev Camb Philos Soc* 90:891–926. <https://doi.org/10.1111/brv.12137>
- Ruppert EE, Fox RS, Barnes RD (2004) *Invertebrate zoology: a functional evolutionary approach*, 7th ed. Thomson-Brooks/Cole, Belmont, CA
- Ryg M, Lydersen C, Markussen NH, et al (1990) Estimating the Blubber Content of Phocid Seals. *Can J Fish Aquat Sci* 47:1223–1227. <https://doi.org/10.1139/f90-142>
- Sakurai T, Kudo M, Watanabe T, et al (2013) Hypothermia protects against fulminant hepatitis in mice by reducing reactive oxygen species production. *Dig Dis* 31:440–446. <https://doi.org/10.1159/000355242>
- Sano Y, Shiina T, Naitou K, et al (2015) Hibernation-specific alternative splicing of the mRNA encoding cold-inducible RNA-binding protein in the hearts of hamsters. *Biochem Biophys Res Commun* 462:322–325. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.04.135>
- Sato K, Mitani Y, Naito Y, Kusagaya H (2003a) Synchronous shallow dives by Weddell seal mother-pup pairs during lactation. *Marine Mammal Science - MAR MAMMAL SCI* 19:384–395. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2003.tb01116.x>

- Sato K, Tsuchiya Y, Kudoh S, Naito Y (2003b) Meteorological factors affecting the number of Weddell seals hauling-out on the ice during the molting season at Syowa Station, East Antarctica. *Polar Bioscience* 16:
- Sauvé CC, Walle JV de, Hammill MO, et al (2014) Stomach Temperature Records Reveal Nursing Behaviour and Transition to Solid Food Consumption in an Unweaned Mammal, the Harbour Seal Pup (*Phoca vitulina*). *PLOS ONE* 9:e90329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0090329>
- Scandurra FM, Gnaiger E (2010) Cell Respiration Under Hypoxia: Facts and Artefacts in Mitochondrial Oxygen Kinetics. In: Takahashi E, Bruley DF (eds) *Oxygen Transport to Tissue XXXI*. Springer US, Boston, MA, pp 7–25
- Schmid J, Speakman JR (2009) Torpor and energetic consequences in free-ranging grey mouse lemurs (*Microcebus murinus*): a comparison of dry and wet forests. *Naturwissenschaften* 96:609
- Schmidt-Nielsen K (1972) *How Animals Work*. Cambridge University Press
- Schoeller DA, Van Santen E, Peterson DW, et al (1980) Total body water measurement in humans with ¹⁸O and ²H labeled water. *The American Journal of Clinical Nutrition* 33:2686–2693. <https://doi.org/10.1093/ajcn/33.12.2686>
- Scholander PF, Walters V, Hock R, Irving L (1950) Body insulation of some arctic and tropical mammals and birds. *Biol Bull* 99:225–236. <https://doi.org/10.2307/1538740>
- Schop J, Aarts G, Kirkwood R, et al (2017) Onset and duration of gray seal (*Halichoerus grypus*) molt in the Wadden Sea, and the role of environmental conditions. *Marine Mammal Science* 33:830–846. <https://doi.org/10.1111/mms.12404>
- Schubert H, Telesh I, Nikinmaa M, Skarlato S (2017) Physiological adaptations. In: Snoeijs-Leijonmalm P, Schubert H, Radziejewska T (eds) *Biological Oceanography of the Baltic Sea*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 255–278
- Sena LA, Chandel NS (2012) Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Mol Cell* 48:158–167. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.09.025>
- Shero M, Pearson L, Costa D, Burns J (2014) Improving the Precision of Our Ecosystem Calipers: A Modified Morphometric Technique for Estimating Marine Mammal Mass and Body Composition. *PloS one* 9:e91233. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091233>
- Sick H, Gersonde K (1969) Method for continuous registration of O₂-binding curves of hemoproteins by means of a diffusion chamber. *Anal Biochem* 32:362–376. [https://doi.org/10.1016/s0003-2697\(69\)80002-3](https://doi.org/10.1016/s0003-2697(69)80002-3)
- Simons LS, Martin TE (1990) Food Limitation of Avian Reproduction: An Experiment with the Cactus Wren. *Ecology* 71:869–876. <https://doi.org/10.2307/1937358>

- Skrovan RC, Williams TM, Berry PS, et al (1999) The diving physiology of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). II. Biomechanics and changes in buoyancy at depth. *J Exp Biol* 202:2749–2761. <https://doi.org/10.1242/jeb.202.20.2749>
- Slip D, Burton H, Gales N (1992a) Determining Blubber Mass in the Southern Elephant Seal, *Mirounga-Leonina*, by Ultrasonic and Isotopic Techniques. *Aust J Zool* 40:143. <https://doi.org/10.1071/ZO9920143>
- Slip DJ, Burton HR (1999) Population status and seasonal haulout patterns of the southern elephant seal (*Mirounga leonina*) at Heard Island. *Antarctic Science* 11:38–47. <https://doi.org/10.1017/S0954102099000061>
- Slip DJ, Gales NJ, Burton HR (1992b) Body-Mass Loss, Utilization of Blubber and Fat, and Energetic Requirements of Male Southern Elephant Seals, *Mirounga-Leonina*, During the Molting Fast. *Aust J Zool* 40:235–243. <https://doi.org/10.1071/zo9920235>
- Sohal RS, Agarwal S, Dubey A, Orr WC (1993) Protein oxidative damage is associated with life expectancy of houseflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 90:7255–7259. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.15.7255>
- Somo DA, Ensminger DC, Sharick JT, et al (2015) Development of Dive Capacity in Northern Elephant Seals (*Mirounga angustirostris*): Reduced Body Reserves at Weaning Are Associated with Elevated Body Oxygen Stores during the Postweaning Fast. *Physiological and Biochemical Zoology* 88:471–482. <https://doi.org/10.1086/682386>
- Soñanez-Organis JG, Vázquez-Medina JP, Crocker DE, Ortiz RM (2013) Prolonged fasting activates hypoxia inducible factor -1 α , -2 α and -3 α in a tissue-specific manner in northern elephant seal pups. *Gene* 526:155–163. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.05.004>
- Sorensen M, Sanz A, Gómez J, et al (2006) Effects of fasting on oxidative stress in rat liver mitochondria. *Free Radic Res* 40:339–347. <https://doi.org/10.1080/10715760500250182>
- Sparling CE, Fedak MA (2004) Metabolic rates of captive grey seals during voluntary diving. *J Exp Biol* 207:1615–1624. <https://doi.org/10.1242/jeb.00952>
- Speakman J (1998) Speakman JR. The history and theory of the doubly labeled water technique. *Am J Clin Nutr* 68, 932S-938S. *The American journal of clinical nutrition* 68:932S-938S
- Speakman JR, Talbot DA, Selman C, et al (2004) Uncoupled and surviving: individual mice with high metabolism have greater mitochondrial uncoupling and live longer. *Aging Cell* 3:87–95. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9728.2004.00097.x>
- Starck J, Ricklefs RE (1998) Avian growth and development. Evolution in the altricial precocial spectrum. *Patterns of development: The altricial-precocial spectrum* 3–30

- Starke-Reed PE, Oliver CN (1989) Protein oxidation and proteolysis during aging and oxidative stress. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 275:559–567. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(89\)90402-5](https://doi.org/10.1016/0003-9861(89)90402-5)
- Stearns S (1976) Life History Tactics: A Review of the Ideas. *The Quarterly review of biology* 51:3–47. <https://doi.org/10.1086/409052>
- Stearns SC, Stearns SC (1992) *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford, New York
- Steele ZT, Caceres K, Jameson AD, et al (2024) A protocol for distilling animal body water from biological samples and measuring oxygen and hydrogen stable isotopes via cavity ring-down spectroscopy. *Isotopes Environ Health Stud* 60:229–250. <https://doi.org/10.1080/10256016.2024.2323201>
- Stenseth NC, Mysterud A, Ottersen G, et al (2002) Ecological effects of climate fluctuations. *Science* 297:1292–1296. <https://doi.org/10.1126/science.1071281>
- Stephens DW (1987) *Foraging Theory* |, Princeton University Press
- Stier A, Schull Q, Bize P, et al (2019) Oxidative stress and mitochondrial responses to stress exposure suggest that king penguins are naturally equipped to resist stress. *Sci Rep* 9:8545. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44990-x>
- Stirling I, Lunn NJ, Iacozza J (1999) Long-term Trends in the Population Ecology of Polar Bears in Western Hudson Bay in Relation to Climatic Change. *ARCTIC* 52:294–306. <https://doi.org/10.14430/arctic935>
- Stockard TK, Levenson DH, Berg L, et al (2007) Blood oxygen depletion during rest-associated apneas of northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*). *J Exp Biol* 210:2607–2617. <https://doi.org/10.1242/jeb.008078>
- Storm J, Boyles J (2011) Body temperature and body mass of hibernating little brown bats *Myotis lucifugus* in hibernacula affected by white-nose syndrome. *Acta theriologica* 56:123–127. <https://doi.org/10.1007/s13364-010-0018-5>
- Stout BE, Cooke F (2003) Timing and Location of Wing Molt in Horned, Red-necked and Western Grebes in North America. *cowa* 26:88–93. [https://doi.org/10.1675/1524-4695\(2003\)026\[0088:TALOWM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1675/1524-4695(2003)026[0088:TALOWM]2.0.CO;2)
- Strum SC (1991) Weight and age in wild olive baboons. *Am J Primatol* 25:219–237. <https://doi.org/10.1002/ajp.1350250403>
- Stumpfel S, Bieber C, Blanc S, et al (2017) Differences in growth rates and pre-hibernation body mass gain between early and late-born juvenile garden dormice. *J Comp Physiol B* 187:253–263. <https://doi.org/10.1007/s00360-016-1017-x>
- Tadaishi M, Miura S, Kai Y, et al (2011) Skeletal Muscle-Specific Expression of PGC-1 α -b, an Exercise-Responsive Isoform, Increases Exercise Capacity and Peak Oxygen Uptake. *PLOS ONE* 6:e28290. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028290>

- Tessier E, Bost C-A (2020) Behavioural adjustments during foraging in two diving seabirds: king and macaroni penguins. *Mar Biol* 167:138. <https://doi.org/10.1007/s00227-020-03711-z>
- Testut L, Woppelmann G, Simon B, Téchiné P (2006) The sea level at Port-aux-Français, Kerguelen Island, from 1949 to the present. *Ocean Dynamics* 56:464–472. <https://doi.org/10.1007/s10236-005-0056-8>
- Thomalla SJ, Fauchereau N, Swart S, Monteiro PMS (2011) Regional scale characteristics of the seasonal cycle of chlorophyll in the Southern Ocean. *Biogeosciences* 8:2849–2866. <https://doi.org/10.5194/bg-8-2849-2011>
- Thomalla SJ, Nicholson S-A, Ryan-Keogh TJ, Smith ME (2023) Widespread changes in Southern Ocean phytoplankton blooms linked to climate drivers. *Nat Clim Chang* 13:975–984. <https://doi.org/10.1038/s41558-023-01768-4>
- Thomas A, Ono K (2015) Diving Related Changes in the Blood Oxygen Stores of Rehabilitating Harbor Seal Pups (*Phoca vitulina*). *PLOS ONE* 10:e0128930. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128930>
- Thometz NM, Hermann-Sorensen H, Russell B, et al (2021) Molting strategies of Arctic seals drive annual patterns in metabolism. *Conservation Physiology* 9:coaa112. <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa112>
- Thometz NM, Rosen DAS, Hermann-Sorensen H, et al (2023) Maintaining control: metabolism of molting Arctic seals in water and when hauled out. *Journal of Experimental Biology* 226:jeb244862. <https://doi.org/10.1242/jeb.244862>
- Thorson PH, Le Boeuf BJL (2023) Fifteen. Developmental aspects of diving in northern elephant seal pups. In: *Fifteen. Developmental aspects of diving in northern elephant seal pups*. University of California Press, pp 271–289
- Tierney M, Hindell M, Lea M-A, Tollit D (2001) A comparison of techniques used to estimate body condition of southern elephant seals (*Mirounga leonina*). *Wildl Res* 28:581. <https://doi.org/10.1071/WR00066>
- Tift MS, Ranalli EC, Houser DS, et al (2013) Development enhances hypometabolism in northern elephant seal pups (*Mirounga angustirostris*). *Funct Ecol* 27:1155–1165. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12111>
- Timmermans M-L, Marshall J (2020) Understanding Arctic Ocean Circulation: A Review of Ocean Dynamics in a Changing Climate. *Journal of Geophysical Research: Oceans* 125:e2018JC014378. <https://doi.org/10.1029/2018JC014378>
- Tomas E, Tsao T-S, Saha AK, et al (2002) Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: Acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99:16309–16313. <https://doi.org/10.1073/pnas.222657499>

- Tremblay Y, Cherel Y (1999) Synchronous Underwater Foraging Behavior in Penguins. *The Condor* 101:179–185. <https://doi.org/10.2307/1370462>
- Turrens JF (2003) Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *J Physiol* 552:335–344. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>
- Twiss S, Wright N, Dunstone N, et al (2002) Behavioral evidence of thermal stress from overheating in UK breeding gray seals. *Marine Mammal Science* 18:455–468. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.2002.tb01048.x>
- Tyanova S, Temu T, Cox J (2016) The MaxQuant computational platform for mass spectrometry-based shotgun proteomics. *Nat Protoc* 11:2301–2319. <https://doi.org/10.1038/nprot.2016.136>
- Ummenhofer CC, Meehl GA (2017) Extreme weather and climate events with ecological relevance: a review. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 372:20160135. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0135>
- Valdez DJ, Benitez-Vieyra SM (2023) Annual molt period and seasonal color variation in the Eared Dove's crown. *PLOS ONE* 18:e0280819. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0280819>
- van Breukelen F, Martin S (2002) Reversible depression of transcription during hibernation. *J Comp Physiol B* 172:355–361. <https://doi.org/10.1007/s00360-002-0256-1>
- van den Berg SAA, van Marken Lichtenbelt W, Willems van Dijk K, Schrauwen P (2011) Skeletal muscle mitochondrial uncoupling, adaptive thermogenesis and energy expenditure. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 14:243–249. <https://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3283455d7a>
- Vaterlaus-Schlegel C (1997) The garden dormouse (*Eliomys quercinus* L.) in the Petite Camargue Alsacienne (nature reserve, Alsace, France). An ecological study by trapping and radio tracking. *Natura Croatica : Periodicum Musei Historiae Naturalis Croatici* 6:233–241
- Vázquez-Medina JP, Crocker DE, Forman HJ, Ortiz RM (2010) Prolonged fasting does not increase oxidative damage or inflammation in postweaned northern elephant seal pups. *Journal of Experimental Biology* 213:2524–2530. <https://doi.org/10.1242/jeb.041335>
- Vázquez-Medina JP, Soñanez-Organis JG, Burns JM, et al (2011a) Antioxidant capacity develops with maturation in the deep-diving hooded seal. *J Exp Biol* 214:2903–2910. <https://doi.org/10.1242/jeb.057935>
- Vázquez-Medina JP, Soñanez-Organis JG, Rodriguez R, et al (2013) Prolonged fasting activates Nrf2 in post-weaned elephant seals. *Journal of Experimental Biology* 216:2870–2878. <https://doi.org/10.1242/jeb.081927>

- Vázquez-Medina JP, Zenteno-Savín T, Elsner R (2007) Glutathione protection against dive-associated ischemia/reperfusion in ringed seal tissues. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 345:110–118. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.02.003>
- Vázquez-Medina JP, Zenteno-Savín T, Elsner R (2006) Antioxidant enzymes in ringed seal tissues: Potential protection against dive-associated ischemia/reperfusion. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 142:198–204. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.09.004>
- Vázquez-Medina JP, Zenteno-Savín T, Forman HJ, et al (2011b) Prolonged fasting increases glutathione biosynthesis in postweaned northern elephant seals. *Journal of Experimental Biology* 214:1294–1299. <https://doi.org/10.1242/jeb.054320>
- Vázquez-Medina JP, Zenteno-Savín T, Tift MS, et al (2011c) Apnea stimulates the adaptive response to oxidative stress in elephant seal pups. *Journal of Experimental Biology* 214:4193–4200. <https://doi.org/10.1242/jeb.063644>
- Vuarin P, Dammhahn M, Henry P-Y (2013) Individual flexibility in energy saving: body size and condition constrain torpor use. *Functional Ecology* 27:793–799. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12069>
- Walcott SM, Kirkham AL, Burns JM (2020) Thermoregulatory costs in molting Antarctic Weddell seals: impacts of physiological and environmental conditions. *Conservation Physiology* 8:coaa022. <https://doi.org/10.1093/conphys/coaa022>
- Walters A, Lea M-A, Van Den Hoff J, et al (2014) Spatially Explicit Estimates of Prey Consumption Reveal a New Krill Predator in the Southern Ocean. *PLoS ONE* 9:e86452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086452>
- Wasselin T, Zahn S, Maho YL, et al (2014) Exacerbated oxidative stress in the fasting liver according to fuel partitioning. *Proteomics* 14:1905–1921. <https://doi.org/10.1002/pmic.201400051>
- Watson RR, Miller TA, Davis RW (2003) Immunohistochemical fiber typing of harbor seal skeletal muscle. *Journal of Experimental Biology* 206:4105–4111. <https://doi.org/10.1242/jeb.00652>
- Webb DR (1979) Environmental harshness, heat stress, and *Marmota flaviventris*. *Oecologia* 44:390–395. <https://doi.org/10.1007/BF00545243>
- Webb PM, Andrews RD, Costa DP, Le Boeuf BJ (1998) Heart rate and oxygen consumption of northern elephant seals during diving in the laboratory. *Physiol Zool* 71:116–125. <https://doi.org/10.1086/515894>
- Weber R (1981) Cationic control of O₂ affinity in lugworm erythrocytes. *Nature* 292:386–387. <https://doi.org/10.1038/292386a0>

- Weir HJ, Yao P, Huynh FK, et al (2017) Dietary Restriction and AMPK Increase Lifespan via Mitochondrial Network and Peroxisome Remodeling. *Cell Metab* 26:884-896.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.09.024>
- Wellmann S, Bühner C, Moderegger E, et al (2004) Oxygen-regulated expression of the RNA-binding proteins RBM3 and CIRP by a HIF-1-independent mechanism. *Journal of cell science* 117:1785–94. <https://doi.org/10.1242/jcs.01026>
- Wheatley KE, Bradshaw CJA, Davis LS, et al (2006) Influence of maternal mass and condition on energy transfer in Weddell seals. *Journal of Animal Ecology* 75:724–733. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2006.01093.x>
- Wheler C (2007) Skin Diseases of Exotic Pets. *Can Vet J* 48:432
- Wilhelm Filho D, Sell F, Ribeiro L, et al (2002) Comparison between the antioxidant status of terrestrial and diving mammals. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 133:885–892. [https://doi.org/10.1016/s1095-6433\(02\)00253-2](https://doi.org/10.1016/s1095-6433(02)00253-2)
- Wilkinson IS, Bester MN (1990) Duration of post-weaning fast and local dispersion in the southern elephant seal, *mirounga-leonina*, at marion island
- Williams DR, Epperson LE, Li W, et al (2006) Seasonally hibernating phenotype assessed through transcript screening. *Physiological Genomics* 24:13–22. <https://doi.org/10.1152/physiolgenomics.00301.2004>
- Williams R, Vikingsson GA, Gislason A, et al (2013) Evidence for density-dependent changes in body condition and pregnancy rate of North Atlantic fin whales over four decades of varying environmental conditions. *ICES Journal of Marine Science* 70:1273–1280. <https://doi.org/10.1093/icesjms/fst059>
- Williams TM, Davis RW, Fuiman LA, et al (2000) Sink or Swim: Strategies for Cost-Efficient Diving by Marine Mammals. *Science* 288:133
- Wilson R, Cooper J, Plotz, Joachim J (1992) Can we determine when marine endotherms feed? A case study of seabirds. *Journal of Experimental Biology* 167:. <https://doi.org/10.1242/jeb.167.1.267>
- Wilson RP, Pütz K, Grémillet D, et al (1995) Reliability of Stomach Temperature Changes in Determining Feeding Characteristics of Seabirds. *Journal of Experimental Biology* 198:1115–1135. <https://doi.org/10.1242/jeb.198.5.1115>
- Worthy G a. J, Morris PA, Costa DP, Boeuf BJL (1992) Moulting energetics of the northern elephant seal (*Mirounga angustirostris*). *Journal of Zoology* 227:257–265. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1992.tb04821.x>
- Wright TJ, Davis RW, Holser RR, et al (2020) Changes in Northern Elephant Seal Skeletal Muscle Following Thirty Days of Fasting and Reduced Activity. *Front Physiol* 11:564555. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.564555>

- Xia Z, Jiang K, Liu T, et al (2013) The protective effect of Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) on testicular torsion/detorsion: an experimental study in mice. *J Pediatr Surg* 48:2140–2147. <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2013.02.065>
- Xiao X, Zhang Y (2014) Life in extreme environments: Approaches to study life-environment co-evolutionary strategies. *Sci China Earth Sci* 57:869–877. <https://doi.org/10.1007/s11430-014-4858-8>
- Yahner R (2012) *Wildlife Behavior and Conservation*
- Yang H-J, Ju F, Guo X-X, et al (2017) RNA-binding protein RBM3 prevents NO-induced apoptosis in human neuroblastoma cells by modulating p38 signaling and miR-143. *Sci Rep* 7:41738. <https://doi.org/10.1038/srep41738>
- Yim H-S, Cho YS, Guang X, et al (2014) Minke whale genome and aquatic adaptation in cetaceans. *Nat Genet* 46:88–92. <https://doi.org/10.1038/ng.2835>
- Zenteno-Savín T, Clayton-Hernández E, Elsner R (2002) Diving seals: are they a model for coping with oxidative stress? *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 133:527–536. [https://doi.org/10.1016/s1532-0456\(02\)00075-3](https://doi.org/10.1016/s1532-0456(02)00075-3)
- Zenteno-Savin T, St. Leger J, Ponganis PJ (2010) Hypoxemic and ischemic tolerance in emperor penguins. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 152:18–23. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.02.007>
- Zeppelin T, Pelland N, Sterling J, et al (2019) Migratory strategies of juvenile northern fur seals (*Callorhinus ursinus*): bridging the gap between pups and adults. *Sci Rep* 9:13921. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50230-z>
- Zhu X, Bühner C, Wellmann S (2016) Cold-inducible proteins CIRP and RBM3, a unique couple with activities far beyond the cold. *Cell Mol Life Sci* 73:3839–3859. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2253-7>
- Zimova M, Hackländer K, Good JM, et al (2018) Function and underlying mechanisms of seasonal colour moulting in mammals and birds: what keeps them changing in a warming world? *Biological Reviews* 93:1478–1498. <https://doi.org/10.1111/brv.12405>
- Zuberogoitia I, Zabala-Albizua J, Martínez J (2018) Molt in Birds of Prey: A Review of Current Knowledge and Future Challenges for Research. *Ardeola: revista ibérica de ornitología* 65:. <https://doi.org/10.13157/arla.65.2.2018.rp1>
- Zuo L, Zhou T, Pannell BK, et al (2015) Biological and physiological role of reactive oxygen species – the good, the bad and the ugly. *Acta Physiologica* 214:329–348. <https://doi.org/10.1111/apha.12515>

Adaptations physiologiques et comportementales des éléphants de mer du sud (*Mirounga leonina*) face aux environnements et événements extrêmes rencontrés tout au long de leur vie

Résumé

Cette thèse vise à comprendre les adaptations physiologiques et comportementales des éléphants de mer du sud face aux événements extrêmes que représentent les plongées extrêmes et les phases à terre, récurrentes tout au long de leur cycle. Ce travail montre que les animaux présentent une grande variabilité de réponse, selon les conditions environnementales et leur condition physiologique. La condition corporelle apparaît centrale dans les adaptations exprimées, dès le sevrage. En particulier, le post-sevrage apparaît comme une phase critique où le compromis entre la condition corporelle au départ en mer et le conditionnement pour les plongées à venir s'exprime au travers de comportements d'entraînements différents. Ces résultats montrent aussi qu'à l'échelle cellulaire, ces animaux semblent présenter une plasticité métabolique permettant de faire face à la demande énergétique importante à terre, que ce soit pour une activité physique intense, la lactation, ou la mue. Ce travail désormais la question des conséquences plus long terme de cette variabilité individuelle, à l'échelle du cycle suivant, et de la vie de l'individu.

Mots clefs : balance énergétique, hypoxie, adaptations, comportements, variabilité individuelle, conditionnement

Summary

This thesis aims to understand the physiological and behavioral adaptations of southern elephant seals to extreme events such as extreme dives and on-land periods that regularly occur throughout their cycle. This work shows that animals have a great variability of response, depending on environmental conditions and their physiological condition. Body condition is critical to responses, even from weaning. Specifically, different training behaviors express the compromise between body condition at departure and preconditioning for future dives during the crucial post-weaning period. These results also show that these animals seem to have an incredible metabolic plasticity, allowing them to meet the important energy demand on land, whether for intense physical activity, lactation, or molt. This work now raises the question of the longer-term consequences of this individual variability for the next cycle and the life of the individual.

Keywords : energy balance, hypoxia, adaptation, behavior, individual variability, preconditioning