



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES DES ORGANISMES ET ÉCOLOGIE

Variations saisonnières de la composition lipique et du statut hépatique chez la perche, *Perca fluviatilis* L., au cours d'un cycle annuel de reproduction en milieu naturel

Druart, Xavier

Award date:
2002

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.



**FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX
NAMUR**

Faculté des Sciences

**VARIATIONS SAISONNIERES DE LA COMPOSITION LIPIQUE ET DU
STATUT HEPATIQUE CHEZ LA PERCHE, *Perca fluviatilis* L., AU COURS
D'UN CYCLE ANNUEL DE REPRODUCTION EN MILIEU NATUREL**

**Mémoire présenté pour l'obtention du grade de
licencié en Sciences biologiques**

Xavier DRUART

Août 2002

Variations saisonnières de la composition lipidique et du statut hépatique chez la perche, *Perca fluviatilis* L., au cours d'un cycle annuel de reproduction en milieu naturel

DRUART Xavier

Résumé

L'objectif principal de ce mémoire est de caractériser le statut hépatique de perches *Perca fluviatilis* L. issues du milieu naturel, tout au long d'un cycle annuel de reproduction de manière à servir de référentiel dans le cadre d'expérience d'alimentation en condition d'élevage. Pour ce faire, un minimum de 5 mâles et de 5 femelles a été prélevé en Haute Meuse (Belgique) entre le mois d'août 2001 et le mois d'avril 2002. Un prélèvement d'organes a permis le calcul des indices gonado-, hépato- et lipo-somatique (IGS, IHS et ILS). Des dosages des lipides totaux, la détermination de la composition en acides gras, l'étude de l'ultrastructure hépatique et la détermination du stade de développement des gonades ont également été réalisés. Au cours de la période de repos sexuel (août), les perches femelles accumulent des réserves énergétiques au niveau des graisses périviscérales (ILS = 1,6 %) et au niveau du foie (contenu en lipides totaux = 0,0005 g de lipides/g de poids corporel; taille moyenne des gouttelettes lipidiques = 0,09 μm^2). Le foie présente un réticulum endoplasmique rugueux (RER) peu développé et de nombreuses petites mitochondries (taille moyenne = 0,02 μm^2) fournissant l'énergie nécessaire aux processus de stockage des lipides et du glycogène. L'IGS = 0,6 %. A partir du mois d'octobre débute la vitellogenèse exogène. A ce moment, l'ILS est de 0,7 %, l'IGS est de 6,2 %. Le RER se développe de manière importante, la surface moyenne des mitochondries augmente (0,05 μm^2), celle des gouttelettes lipidiques diminue (0,05 μm^2). En avril, la vitellogenèse exogène est terminée, nous observons des ovules (ILS = 0,3 %; IGS = 28 %; contenu en lipides totaux hépatiques = 0,0003 g de lipides/g de poids corporel; surface moyenne des gouttelettes lipidiques = 0,05 μm^2 ; surface moyenne des mitochondries = 0,06 μm^2). Chez les mâles, au mois d'août (période de repos sexuel), l'ILS est de 1 %, l'IGS de 0,3 %, le contenu en lipides totaux hépatiques est de 0,0007 g de lipides/g de poids corporel. Les mâles sont immatures. La spermatogenèse progresse rapidement (l'IGS d'octobre est de 6 % et l'ILS est de 0,5 %). En février, les mâles sont spermiantes (IGS = 6,9 %; ILS = 0,1 %). L'IGS diminue durant mars et avril, suite à la spermiation. En avril, le contenu en lipides totaux hépatiques est de 0,0004 g de lipides/g de poids corporel. Mâles et femelles utilisent les graisses périviscérales comme source d'énergie pour la reproduction. Le foie intervient également dans le stockage, mais est influencé par les conditions trophiques du milieu et le stade de développement des gonades. L'étude de l'ultrastructure hépatique est à prendre en considération lors de l'administration de régimes alimentaires, étant donné que ces derniers peuvent influencer le développement de certains organites et des zones de stockage.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques

Août 2002

Promoteur: P. Kestemont

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
FACULTE DES SCIENCES
Secrétariat du Département de Biologie
Rue de Bruxelles 61 - 5000 NAMUR
Téléphone: + 32(0)81.72.44.18 - Téléfax: + 32(0)81.72.44.20
E-mail: joëlle.jonet@fundp.ac.be - <http://www.fundp.ac.be/fundp.html>

Seasonal variations in lipid composition and hepatic status of wild perch, *Perca fluviatilis* L., during an annual reproductive cycle

DRUART Xavier

Abstract

The main purpose of this study is to characterise the hepatic status of wild perch *Perca fluviatilis* L. Fish were collected between August 2001 and April 2002 from the River Meuse (Belgium). A minimum of 5 males and 5 females were caught and dissected. From sampled organs, the gonado-, hepato- and liposomatic indexes (GSI, HSI and LSI) were calculated. Liver ultrastructure, lipid and fatty acid compositions and gonad development were also investigated. During the sexual resting period (August), females stored energy in perivisceral fat (LSI = 1.6 %) and into the liver (total lipids = 0.0005 g lipids/ g of body weight; average size of hepatic lipid droplets = $0.09 \mu\text{m}^2$). Liver contained a weakly developed rough endoplasmic reticulum (RER) and a great number of small mitochondria (average size = $0.02 \mu\text{m}^2$) which produce energy to store glycogen and lipids. GSI = 0.6 %. At the onset of exogenous vitellogenesis the LSI fell to 0.7 %; GSI was 6.2 %. RER was strongly developed, the average area of mitochondria increased ($0.05 \mu\text{m}^2$) but the surface of lipid droplets decreased ($0.05 \mu\text{m}^2$). In April, exogenous vitellogenesis was completed, gonads contained ova. LSI was 0.3 %, GSI averaged 28 % and the total lipid content of liver was 0.0003 g lipids/ g of body weight. Average area of lipid droplets was $0.05 \mu\text{m}^2$ and mitochondria was $0.06 \mu\text{m}^2$. During the sexual resting period of males (August) the LSI was 1 %, GSI was 0.3 % and total lipids in the liver was 0.0007 g lipids/ g of body weight. Males were immature. Spermatogenesis progressed rapidly (in October GSI reached 6 % and LSI = 0.5 %). In February males were spermiating (GSI = 6.9 %; LSI = 0.1 %). GSI strongly decreased in March and April due to spermiation. In April the total lipid content of liver was 0.0004 g lipids/ g of body weight.

Males and females use perivisceral fat as energy source for reproduction. Liver is also involved in this process but is influenced by trophic condition of the environment and by gonadal development. Since dietary treatment can affect the storage of energy and the organelle development, precise ultrastructural investigations are needed in future nutritional studies of perch in culture conditions.

Dissertation in Biological Sciences

August 2002

Promoter: P. Kestemont

Et voilà, après quelques mois de travail, l'heure des remerciements est déjà venue...

Je tiens tout d'abord, à remercier, les Professeurs Jean-Pierre Descy, Jean-Claude Micha et Pierre Devos pour leur accueil au sein de l'URBO, au cours de ce mémoire.

J'exprime ma reconnaissance au Professeur Patrick Kestemont, promoteur de ce mémoire, pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail ainsi que pour les judicieux conseils qu'il m'a prodigués, durant ces quelques mois.

J'adresse mes plus profonds remerciements à Gersande Blanchard, tutrice de ce travail, dont la porte a toujours été grande ouverte pour répondre à la moindre de mes questions, ainsi qu'à mes angoisses et qui m'a guidé, avec humour, dans ce premier travail scientifique. Gersande, merci à toi.

Mes remerciements s'adressent à tous les membres de l'URBO, qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce travail:

Je pense à André Evrard pour les pêches en Meuse et les nombreuses discussions "philosophiques", ainsi qu'à Pierre Fossion. Merci à Laura Spano, pour son aide lors des dissections, mais aussi et surtout pour sa grande connaissance de l'ultrastructure cellulaire. Merci aussi à Thierry Mayenne et à Christelle Malbrouck pour le coup de main lors des dissections. Merci à Xueliang Xu pour le temps qu'il m'a consacré à m'apprendre l'utilisation du GC. Merci à Robert Mandiki, pour les conseils avisés qu'il m'a prodigués. Laurent Viroux, François et Frédéric, merci pour vos conseils toujours très précieux, mais aussi pour votre disponibilité constante, ainsi que l'intérêt que vous avez porté à mon travail tout au long de cette année. Geoff, merci pour ton humour et l'ambiance que tu mets, que ce soit en soirée ou au labo. Et enfin, je n'oublierai pas Yves Mines, qui a le "chic" pour parler aux PC et aux imprimantes récalcitrantes, merci à toi pour les impressions et toutes les astuces que tu distilles tout au long de l'année.

Mes remerciements s'adressent également au Professeur Yves Poumay pour l'accueil qu'il m'a offert au sein du département d'histologie et d'embryologie et à l'unité interfacultaire de microscopie électronique. Je remercie ici, Raphaël Déom et Daniel Van Vlaender pour le temps précieux qu'ils m'ont consacré à l'apprentissage des techniques de coupe et de coloration des gonades. Merci aussi, à Marie-France Six-Boulangier et à Chantal Devignon, pour leur aide technique relative à la microscopie électronique. Merci à Yves Houbion pour les explications détaillées sur le maniement du microscope électronique.

Je désire encore remercier mes collègues de promotion de l'URBC, URBM et URBV, avec qui j'ai passé quatre années formidables. Je pense entre autre à Babeth et Val pour les très (trop?) nombreux hébergements lors des Bunkers. Je n'oublie pas les URBO non plus... Merci à Marie-Astrid, Gégé, Sarah, les deux Virginie. Merci aussi à Anne-Laure (merci encore pour ton aide lors des estérifications), à Plage et à Dave, pour les terribles délires qu'on s'est pris tout au long de ces deux dernières années...

Je pense aussi tout particulièrement à Catou, merci pour ton humour, les "petits" verres avant de prendre le train et les voyages dans ce dernier, pour les innombrables bons moments passés ensemble et surtout pour ton amitié. Merci à toi.

Et vous, les membres de la "Dream Team" (Bernie, John, Olky, Yves, les deux Caro, Juju, Sylou, Anne-Noëlle et ma "petite" Emilie), merci pour tous les verres, soirées et vacances passées et à venir ainsi que pour votre soutien moral.

J'adresse aussi un merci tout particulier à ma tante qui a du se "farcir" mon mémoire pour les corrections orthographiques.

Et enfin, mes derniers remerciements s'adressent tout particulièrement à mes parents, pour leur aide, leur soutien moral et financier durant mes études, et sans qui je n'aurais pu réussir. Merci de tout coeur.

Merci à tous.

Xav

Introduction générale	1
Première partie: synthèse bibliographique	
1 Les besoins énergétiques	3
1.1 Besoins énergétiques des êtres vivants	3
1.2 Besoins énergétiques des téléostéens.....	3
1.2.1 Production d'énergie au niveau cellulaire	3
1.2.1.1 Les deux grands types de besoins énergétiques.....	4
1.2.1.2 Les besoins énergétiques d'entretien.....	4
1.2.1.3 Les besoins énergétiques de production.....	5
2 Les besoins protéiques chez les poissons	5
2.1 Besoins en protéines totales	5
2.2 Besoins en acides aminés	7
2.3 L'épargne protéique.....	7
3 Biosynthèse et dépôts lipidiques chez les téléostéens	9
3.1 Intérêt des lipides.....	9
3.2 Les acides gras.....	9
3.2.1 Rôle des acides gras essentiels	9
3.2.2 Les acides gras essentiels chez les poissons.....	10
3.2.3 Métabolisme des acides gras.....	12
3.2.3.1 Synthèse <i>de novo</i> des acides gras	12
3.2.3.2 Modification des acides gras	13
3.3 Métabolisme lipidique.....	15
3.3.1 Digestibilité des lipides.....	15
3.3.2 Transport des lipides.....	16
3.3.3 Le stockage lipidique.....	16
3.3.3.1 Facteurs naturels conditionnant le stockage des lipides.....	18
3.3.3.2 Facteurs nutritionnels conditionnant le stockage des lipides	19
3.3.4 Mobilisation des lipides.....	19
3.3.4.1 Le jeûne	19
3.3.4.2 La maturation gonadale.....	20
4 Utilisation des réserves énergétiques au cours d'un cycle de reproduction.....	20
4.1 Introduction	20
4.2 Cycle annuel de reproduction.....	20
4.2.1 Description de cycles saisonniers.....	20
4.2.2 Le développement des gonades.....	21
4.2.3 Le statut hépatique au cours d'un cycle de reproduction	21
4.2.3.1 Modification du statut hépatique	21
4.2.3.2 La vitellogenèse exogène	22
4.2.3.3 Modification de l'ultrastructure des hépatocytes	22
4.2.4 Modification de la composition corporelle au cours d'un cycle de reproduction	23
4.3 Influence de l'alimentation sur la reproduction	24
4.3.1 Variation de la composition du vitellus.....	24
4.3.2 Effet de la composition alimentaire sur la qualité des oeufs	25
4.3.3 Effets de la restriction alimentaire.....	26

5 La perche	26
5.1 Présentation de la perche.....	26
5.2 Le cycle de reproduction.....	27
5.2.1 Cycle reproducteur chez la femelle	27
5.2.1.1 Les indices morphométriques (IGS, IHS et IVS)	27
5.2.1.2 Les stéroïdes sexuels	28
5.2.2 Cycle reproducteur chez le mâle	28
5.2.2.1 Les indices morphométriques (IGS, IHS et IVS)	28
5.2.2.2 Les stéroïdes sexuels	28
6 Conclusion	29

Deuxième partie: matériel et méthodes

1 L'espèce cible et sa capture.....	30
1.1 La perche	30
1.2 Les sites et dates de captures.....	30
1.3 Les méthodes de captures.....	30
1.3.1 La pêche électrique.....	30
1.3.2 La pêche au filet maillant	31
1.3.3 Le piégeage dans la nasse	31
2 Etude des paramètres morphologiques et du facteur de condition.....	31
2.1 Mesure de différents paramètres morphologiques.....	31
2.1.1 Longueur totale	31
2.1.2 Poids total	31
2.1.3 Poids du foie.....	32
2.1.4 Poids des gonades.....	32
2.1.5 Poids des graisses périviscérales	32
2.2 Le facteur de condition.....	32
3 Etude du statut hépatique.....	32
3.1 L'indice hépatosomatique.....	32
3.2 Etude de l'ultrastructure hépatique.....	32
3.2.1 Préparation des coupes	32
3.2.2 Observations microscopiques	33
3.2.3 Analyse des résultats	33
3.3 Contenu lipidique, quantification et détermination des acides gras	33
3.3.1 Extraction des lipides totaux.....	33
3.3.2 Détermination et quantification des acides gras.....	34
3.3.3 Analyse des résultats	34
4 Etude du stade de développement des gonades	34
4.1 L'indice gonadosomatique.....	34
4.2 Etude histologique des gonades.....	34
4.2.1 Préparation des coupes histologiques.....	34
4.2.2 Détermination du stade de maturité.....	35
4.3 Contenu lipidique, quantification et détermination des acides gras	36
4.3.1 Extraction des lipides totaux.....	36
4.3.2 Détermination et quantification des acides gras.....	36

4.3.3 Analyse des résultats	36
5 Etude de la composition des muscles	37
5.1 Contenu lipidique, quantification et détermination des acides gras	37
5.1.1 Extraction des lipides totaux.....	37
5.1.2 Détermination et quantification des acides gras.....	37
5.1.3 Analyse des résultats	37
6 Etude des graisses périviscérales	37
6.1 Indice liposomatique.....	37
Troisième partie: résultats	
1 Prélèvements des poissons dans le milieu naturel.....	38
2 Les indices morphométriques (IGS, IHS, ILS et K)	38
3 Teneurs en lipides totaux et composition en acides gras des divers organes	39
3.1 Lipides totaux	39
3.1.1 Foie.....	39
3.1.2 Gonades	40
3.1.3 Muscles.....	40
3.2 Acides gras	41
3.2.1 Foie.....	41
3.2.2 Gonades	42
3.2.3 Muscles.....	44
4 Microscopie électronique du foie.....	46
4.1 Evolution de l'ultrastructure des hépatocytes.....	46
4.1.1 Mois d'août.....	46
4.1.2 Mois d'octobre, février et mars	46
4.1.3 Mois d'avril	46
4.2 Les inclusions lipidiques.....	46
4.2.1 Surface des gouttelettes lipidiques	47
4.2.2 Nombre de gouttelettes lipidiques.....	47
4.3 Les inclusions de glycogène.....	47
4.4 Le réticulum endoplasmique rugueux (RER)	47
4.5 Les mitochondries.....	48
4.5.1 Surface des mitochondries	48
4.5.2 Nombre de mitochondries.....	48
Quatrième partie: discussion	
1 Les indices morphométriques	49
2 Contenu en lipides totaux et en acides gras	51
3 Ultrastructure hépatique	59
Cinquième partie: conclusions et perspectives.....	62
Références bibliographiques.....	65
Annexes	
Annexe1: Liste des espèces citées	80

Table des matières

Annexe 2: Liste des abréviations utilisées dans le texte	81
Annexe 3: Mode opératoire pour la microscopie électronique.....	83
Annexe 4: Mode opératoire pour l'extraction des lipides totaux: méthode de Folch <i>et al.</i> (1957).....	85
Annexe 5: Mode opératoire pour la préparation des FAME (Fatty Acid Methyl Esters): méthode de Tocher & Harvie (1988).....	86
Annexe 6: Mode opératoire pour la coloration des gonades femelles: le trichrome à froid (Langeron, 1942).....	87
Annexe 7: Mode opératoire pour la coloration des gonades mâles: le trichrome à chaud (Langeron, 1942).....	88
Annexe 8: Mode opératoire pour l'extraction des lipides totaux: méthode de Bligh & Dyer (1959)	89
Annexe 9: Dates, lieux des pêches et caractéristiques morphologiques des poissons pêchés	90
Annexe 10: Résultats du test d'homogénéité des variances et de l'analyse de la variance à un critère (ANOVA 1) et à deux critères de classification (ANOVA 2) effectués sur l'indice liposomatique (ILS) ...	92
Annexe 11: Résultats du test d'homogénéité des variances et de l'analyse de la variance à un critère (ANOVA 1) et à deux critères (ANOVA 2) de classification effectués sur les lipides totaux.....	94
Annexe 12: Résultats du test d'homogénéité des variances et de l'analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA 2) effectués sur les acides gras dans les muscles, foies et gonades.....	100
Annexe 13: Résultats du test d'homogénéité des variances et de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectués sur différentes structures hépatiques.....	113

Introduction générale

Introduction générale

1 Présentation générale et objectifs de l'étude

De nos jours, l'aquaculture moderne se base sur la capacité du métabolisme lipidique de certaines espèces "d'eau froide" à tolérer des quantités importantes de lipide, pour concevoir les régimes alimentaires. Ceux-ci sont riches en énergie, du fait de la teneur élevée en lipides. Une caractéristique de la nutrition des poissons réside dans le fait qu'ils utilisent généralement les protéines pour couvrir leurs besoins énergétiques. Or, chez de nombreuses espèces "d'eau froide", telles que les salmonidés (Ringrose, 1971; Lee & Putnam, 1973; Reinitz *et al.*, 1978; Takeuchi *et al.*, 1978*a, b*; Clarke *et al.*, 1982; Corraze, 1999) l'administration de régimes riches en lipides permet un effet d'épargne protéique, c'est-à-dire l'utilisation des lipides alimentaires plutôt que des protéines, comme source d'énergie, les protéines étant alors utilisées de manière plus optimale pour la croissance (Phillips, 1969; Cowey & Sargent, 1979; Watanabe, 1982). Malheureusement, l'administration de régimes trop riches en lipides ou mal équilibrés en acides gras à des espèces "d'eau fraîche", comme la perche *Perca fluviatilis* L. (Kestemont *et al.*, 2001*b*) et à des espèces marines, comme le bar *Dicentrarchus labrax* L. ou le turbot *Psetta maxima* L. (Peres & Oliva-Teles, 1999) entraîne des phénomènes d'intolérance. Parmi ceux-ci, notons de possibles conséquences sur la résistance immunitaire, des retards de croissance, une augmentation du taux de mortalité (Kestemont *et al.*, 2001) ou encore une accumulation de graisses au niveau des tissus hépatiques, ce qui pourrait peut-être générer des stéatoses (accumulation de vésicules de lipides au sein de divers organites cellulaires). Le turbot, le bar et la perche constituent des espèces intéressantes dans le développement de l'aquaculture du 21^{ème} siècle, mais jusqu'à présent, aucun aliment formulé de manière à couvrir les besoins nutritionnels de ces espèces n'est disponible sur le marché. Il faut donc établir les niveaux lipidiques, les rapports protéines/énergie ainsi que les rapports optimaux entre les acides gras essentiels nécessaires à ces espèces, de manière à éviter ce problème de dégénérescence grasseuse fréquent chez ces différentes espèces.

Notre objectif principal est donc d'établir un référentiel basé sur les poissons dans leur milieu naturel de manière à évaluer, par la suite, les résultats d'expériences de nourrissage en comparaison avec ce référentiel. L'établissement de ce référentiel se base sur une étude prenant en considération les aspects saisonniers et sexuels, sachant que le métabolisme lipidique sera fortement influencé par l'état nutritionnel et maturationnel des poissons.

Pour cette étude, nous avons choisi une espèce carnivore d'intérêt pour le développement de l'aquaculture intensive en eau douce en Europe, à savoir la perche commune *Perca fluviatilis* L. (Kestemont & Dabrowski, 1996).

Ce travail s'inscrit dans une thèse visant à améliorer les connaissances du métabolisme lipidique de la perche, ce qui permettra dans une phase ultérieure, d'améliorer l'élevage de ces poissons, en leur apportant des régimes alimentaires contenant des acides gras adéquats et en quantité optimale.

La première phase de ce projet consiste en l'élaboration d'un référentiel de l'état biochimique et cytologique du foie de la perche en milieu naturel. Ce travail fait l'objet de ce mémoire, dont les objectifs sont:

- ✓ Quantifier la teneur en lipides totaux de différents organes (foies, gonades, filets).
- ✓ Déterminer et quantifier les différents acides gras présents dans ces mêmes tissus, au cours des différentes périodes du cycle annuel de reproduction, ceci dans le but de mettre en évidence les relations existant entre les sites de stockage lipidique et les sites d'utilisation d'énergie.
- ✓ Etablir le référentiel hépatique en tant que tel. Pour ce faire, en plus des dosages de lipides et d'acides gras mentionnés ci-dessus, nous réaliserons une étude ultrastructurale des hépatocytes chez la perche, par microscopie électronique. Celle-ci nous permettra de caractériser le statut hépatique des perches adultes au cours d'un cycle annuel de reproduction, de quantifier les principaux organites hépatiques variant au cours d'un cycle saisonnier et d'étudier la superficie et la morphologie de ces mêmes organites cellulaires.

Cette étude sera complétée non seulement par l'histologie des gonades, qui nous permettra de déterminer leur stade de développement, mais aussi par la quantification des graisses périviscérales (principale zone de stockage énergétique chez la perche) qui varient au cours du cycle de reproduction.

Nous élaborons le référentiel à partir d'individus issus du milieu naturel et dont l'alimentation est supposée naturelle. Nous postulons dès lors que les foies étudiés sont représentatifs d'un état hépatique normal.

Ce référentiel permettra d'évaluer dans une phase ultérieure ne faisant pas partie de ce mémoire l'impact au niveau hépatique de divers régimes alimentaires administrés aux poissons d'élevage et de déterminer l'aliment optimal pour l'élevage intensif de cette espèce.

2 Structure de l'étude

Cette étude sera subdivisée en cinq parties. La première partie est une synthèse bibliographique qui fait le point sur les connaissances actuelles en ce qui concerne le métabolisme lipidique et protéique chez les téléostéens, de même que sur l'utilisation des réserves énergétiques au cours d'un cycle annuel. La deuxième partie présente les différentes techniques utilisées lors de cette étude, depuis la collecte des poissons en milieu naturel jusqu'au dosage de lipides et d'acides gras en passant par la microscopie électronique du foie et optique des gonades. Les troisième et quatrième parties, présenteront respectivement, les résultats obtenus durant cette étude et une discussion de ceux-ci. Au terme de ces quatre parties, nous présenterons une conclusion générale.

Première partie:

*Synthèse
bibliographique*

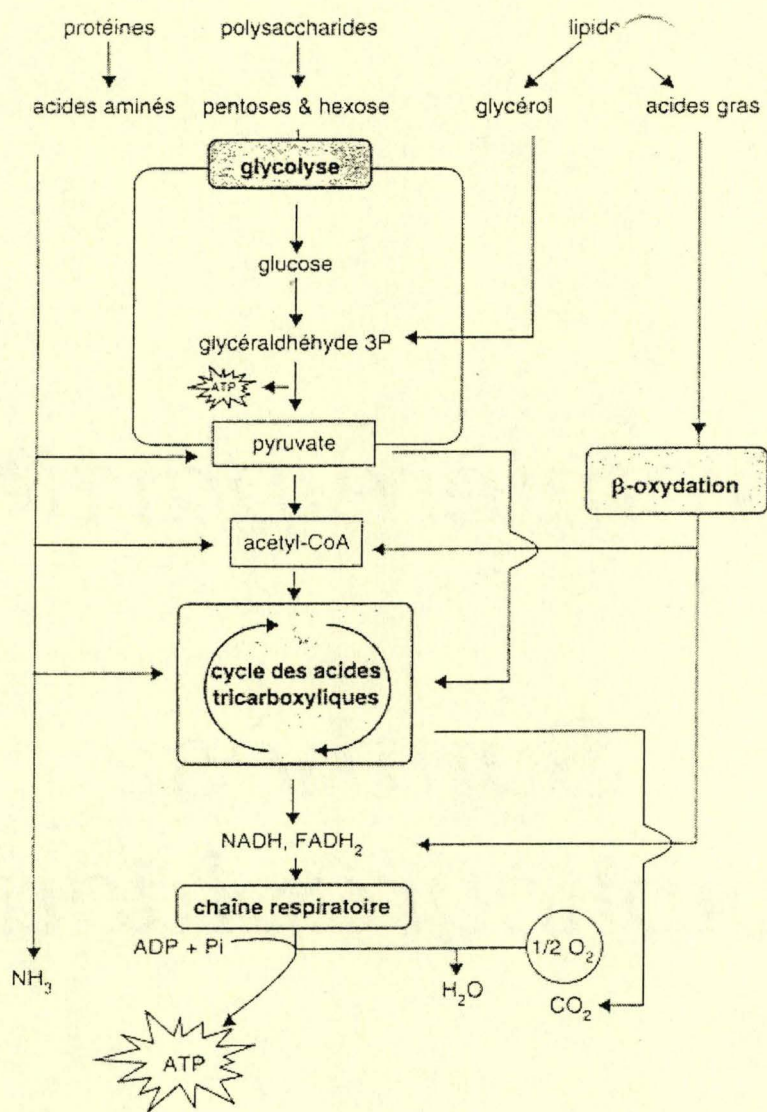


Figure 1.1: Principales voies de production d'énergie (d'après Médale & Guillaume, 1999).

1 Les besoins énergétiques

1.1 Besoins énergétiques des êtres vivants

Pour assurer la vie, tout être vivant a besoin d'énergie. Cette énergie provient en grande partie de la nourriture ingérée ou en période de manque alimentaire, des réserves corporelles. L'énergie peut se définir comme la capacité de faire un travail. En biologie, le travail comprend non seulement l'activité musculaire associée au déplacement, mais également l'énergie pour mener à bien diverses réactions chimiques qui sont indispensables à la vie. Ces réactions sont, entre autres, la synthèse de nouveaux tissus, le maintien de la pression osmotique, l'équilibre ionique, la digestion, la rétention et l'excrétion d'eau, le maintien de la température corporelle (uniquement chez les endothermes). L'énergie issue de l'alimentation et des réserves corporelles est fragmentée entre l'entretien, la croissance somatique et la reproduction (Brett & Groves, 1979; Nelson & McPherson, 1987; Smith *et al.*, 1990).

1.2 Besoins énergétiques des téléostéens

Les téléostéens, comme tous les autres êtres vivants, ont besoin d'énergie pour assurer leurs fonctions vitales. Cette énergie provient des réactions d'oxydation qui entraînent la rupture des liaisons riches en énergie.

1.2.1 Production d'énergie au niveau cellulaire

Les macronutriments sont dégradés au cours de la digestion en composés plus simples, les acides aminés provenant des protéines, les acides gras et glycérols issus des lipides et les hexoses (surtout le glucose) provenant des polysaccharides. Ces éléments sont alors, soit incorporés dans les cellules, soit catabolisés au cours de réactions exergoniques (réactions générant de l'énergie sous la forme d'ATP. Figure 1.1). La production d'énergie se déroule en 3 étapes (Rawn, 1990):

- 1) La formation d'acétyl-coenzyme A (CoA) par oxydation des acides gras, acides aminés et pyruvate issus de la glycolyse.
- 2) La dégradation de l'acétyl-coenzyme A par le cycle des acides tricarboxyliques (TCA) dit aussi cycle de Krebs. Ce cycle permet la libération de CO_2 , d'atomes d'hydrogène et d'éléments réduits (NADH, FADH_2).
- 3) La chaîne de transport d'électrons qui transporte ceux-ci de l'hydrogène vers l'oxygène, tout en permettant la phosphorylation de l'ADP en ATP.

Chez les poissons, comme chez les autres vertébrés, le cycle des acides tricarboxyliques est le site commun d'utilisation de substrats énergétiques en conditions aérobies. Cependant, à la différence des autres vertébrés, les poissons utilisent peu les hydrates de carbones (glucose) comme source d'oxydation cellulaire, ceux-ci étant peu abondants dans le milieu aquatique (Médalle & Guillaume, 1999). Les acides aminés peuvent entrer dans le cycle de manière massive et à différents moments, comme nous le montre la figure 1.2. Ce sont ces composés et non les produits de la glycolyse qui sont utilisés comme source d'énergie. Il faut noter que les acides gras contribuent également à la synthèse d'ATP. C'est pourquoi, lorsque le régime alimentaire est riche en lipides, on observe une diminution de l'oxydation des acides aminés et donc un phénomène d'épargne protéique (voir le point 2.3).

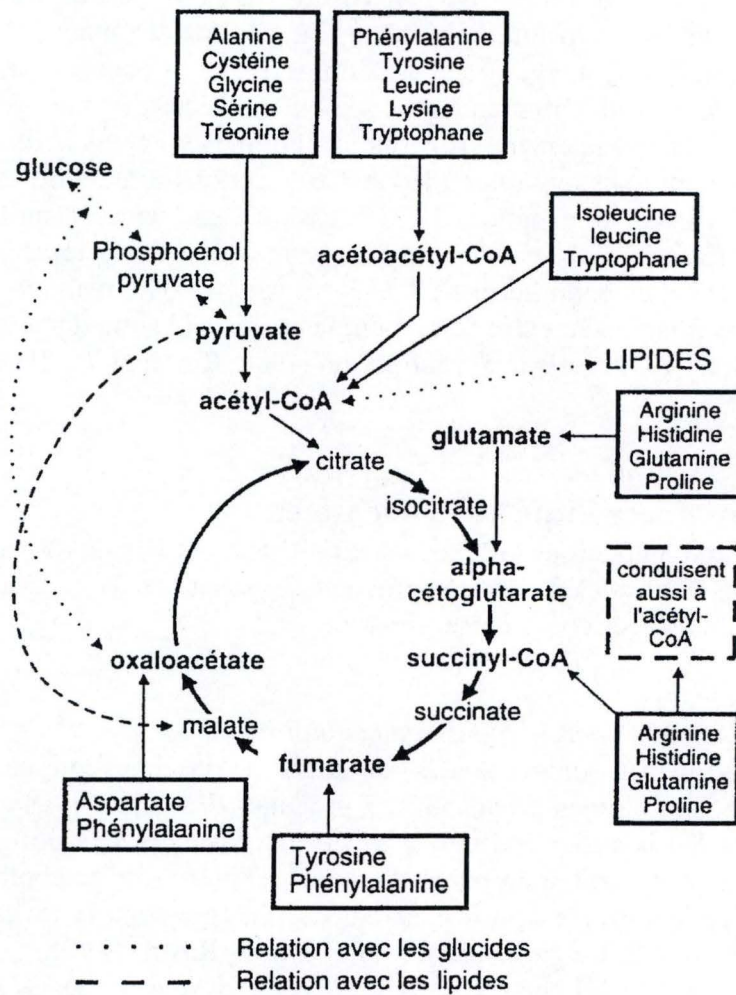


Figure 1.2: Les sites potentiels d'entrée des acides aminés dans le cycle des acides tricarboxyliques dans le foie de poisson (d'après Médale & Guillaume, 1999).

Toutes ces réactions d'oxydation se déroulent dans les tissus riches en mitochondries tels que le foie, les branchies et les muscles rouges (Médalle & Guillaume, 1999).

1.2.1.1 Les deux grands types de besoins énergétiques

Les besoins énergétiques des poissons varient notamment en fonction de leur taille ainsi que de la température de l'eau. On considère que pour les poissons d'eau douce (de 10 à 250 g), la dépense journalière moyenne se situe entre 25 et 45 kJ/kg et ce en fonction de la température (Médalle & Guillaume, 1999).

Il est également intéressant de noter que les poissons, de part leur environnement, vont présenter quelques caractéristiques leur permettant d'économiser de l'énergie (Médalle & Guillaume, 1999):

1) **L'ectothermie:** les poissons ont une température corporelle proche de la température du milieu. Ils ne dépensent donc pas d'énergie pour la thermorégulation, comme le feraient les mammifères ou les oiseaux.

2) **L'ammoniotélie:** l'excrétion des déchets issus du catabolisme des protéines est un processus extrêmement coûteux en énergie. L'ammoniac, NH_3 , est très toxique, il doit donc être rapidement évacué ou converti en composés moins toxiques, tels que l'urée (chez les mammifères) ou l'acide urique (chez les oiseaux), mais ceci nécessite une dépense énergétique importante. Les poissons excrètent 85% de leurs déchets azotés sous forme de NH_3 via un gradient de concentration (processus passif et donc peu coûteux en énergie) au niveau des branchies (Goldstein et Forester, 1970).

3) **La flottaison:** le corps des poissons est porté par l'eau, ils n'ont donc pas besoin de puissants muscles antigravitationnels comme les animaux terrestres. Ceci permet une économie d'énergie. Economie d'énergie qui est encore accentuée par les processus de nage lente qui sont peu coûteux en énergie.

1.2.1.2 Les besoins énergétiques d'entretien

Une composante non négligeable de l'énergie ingérée par les êtres vivants est utilisée pour assurer le fonctionnement des différents systèmes corporels (système circulatoire, digestif, respiratoire). Cette énergie permet également le maintien constant du milieu interne (l'homéostasie). Evidemment, l'énergie dépensée pour le fonctionnement des systèmes et pour l'homéostasie, ne peut plus servir à d'autres fonctions (Campbell, 1995). Le tableau 1.1 donne une idée des besoins énergétiques d'entretien chez quelques téléostéens.

Tableau 1.1: Besoin énergétique d'entretien chez quelques espèces de poissons. D'après Médalle & Guillaume (1999).

Espèces	Masse corporelle (g)	Dépense énergétique (kJ/kg/j)
<i>Cyprinus carpio</i>	80	67
<i>Ictalurus punctatus</i>	10 à 20	84
	100	72
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	150	85 à 100
	300	60

1.2.1.3 Les besoins énergétiques de production

1) **Besoins pour la croissance:** on peut définir ces besoins comme la quantité d'énergie nécessaire pour produire un kilogramme de poisson. Chez la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* Walbaum (1792), elle est de 15-16 MJ/kg de gain de masse corporelle à 8°C et 17-19 MJ/kg de gain de masse corporelle entre 15 et 18°C. L'énergie est nécessaire pour synthétiser les protéines et les graisses à partir des acides aminés et acides gras. L'énergie utilisée dans ces processus provient de l'hydrolyse de l'ATP (Médalle & Guillaume, 1999).

2) **Besoins pour la reproduction:** le coût énergétique pour la production des gamètes est assez important, ainsi les gonades femelles peuvent représenter jusqu'à 30 % du poids corporel, alors que chez les mâles, cette valeur dépasse rarement plus de 10 % du poids. Chez le brochet *Esox lucius* L., l'énergie gonadale juste avant l'émission des gamètes mâles est de 75 kJ, alors que celle des femelles dépasse les 1000 kJ (Médalle & Guillaume, 1999). Chez les salmonidés, la quantité d'énergie stockée sous forme d'oeufs représente 8 à 15 % de l'énergie du corps entier. En plus de cette dépense liée à la production de gamètes, il faut également tenir compte chez certaines espèces de l'apparition de caractères sexuels secondaires (colorations, modifications morphologiques,...) ou de comportements reproducteurs (migrations, construction du nid,...). Un exemple typique de dépense énergétique liée au processus de reproduction est donné lors du comportement de migration chez le saumon sockeye *Oncorhynchus nerka* Walbaum (1792) (une espèce semelpare) : une femelle saumon qui a passé 2 ans en mer pèse environ 2270g et possède des réserves énergétiques pour un total de 17620 kJ. Elle va alors remonter les fleuves et rivières jusqu'au site de frai. Durant cette migration anadrome, elle ne se nourrit pas. Arrivée au site de frai, ses réserves énergétiques ne sont plus que de 7950 kJ et après la reproduction, elles atteindront des valeurs très faibles, de l'ordre de 3890 kJ. Pour le mâle, la valeur après la reproduction sera de 7110 kJ (Brett, 1983). Il ne semble pas exister de besoins spécifiques pour la reproduction en terme de rapport protéine/énergie. Il semblerait qu'une teneur protéique de l'aliment de 35 % permette de bonnes performances de reproduction chez les salmonidés. Si les ressources alimentaires font défaut, les femelles puiseront dans leurs réserves corporelles pour assurer le développement gonadal (Médalle & Guillaume, 1999). On sait toutefois que des déficits en énergie peuvent engendrer des réductions de fécondité ou de qualité des gamètes.

2 Les besoins protéiques chez les poissons

2.1 Besoins en protéines totales

Les besoins des poissons en protéines semblent être extrêmement élevés en comparaison aux besoins des vertébrés supérieurs (tableau 1.2). Les poissons consomment les protéines pour obtenir les acides aminés. Ces protéines sont hydrolysées et libèrent ainsi les acides aminés, qui à leur tour sont employés pour synthétiser de nouvelles protéines. L'apport en acides aminés doit se dérouler de manière continue, car ceux-ci sont continuellement utilisés, soit pour la synthèse de nouvelles protéines (durant la croissance et la reproduction), soit pour le remplacement des protéines existantes (entretien). Le coût énergétique de la synthèse protéique représente une proportion considérable de la dépense énergétique chez les

poissons. On considère que ce coût varie entre 11 et 42 % de la dépense énergétique totale (Houlihan *et al.*, 1988; Lyndon *et al.*, 1992; Carter *et al.*, 1993). D'autre part, la dégradation protéique ajoute, elle aussi, un coût énergétique qui est inconnu (Hawkins, 1991). Evidemment, des teneurs inadéquates en protéines alimentaires peuvent mener à des troubles physiologiques. Ainsi, une carence protéique entraîne une diminution ou un arrêt de croissance avec une perte de poids, mais peut également provoquer un retard dans la maturité sexuelle chez les femelles. D'autre part, si trop de protéines sont apportées dans l'alimentation, seule une partie est transformée en nouvelles protéines, le reste étant converti en énergie (Mambrini & Guillaume, 1999). Différents paramètres vont influencer les besoins en protéines totales. On remarque que ces besoins présentent de grandes variations entre espèces. Cette variabilité reste pour l'instant difficile à expliquer, cependant elle semblerait liée à des métabolismes et activités physiologiques spécifiques à chaque espèce. D'autre part, au cours du temps, le taux de croissance diminue et donc les besoins (en protéine notamment) diminuent simultanément. Par exemple, un très jeune salmonidé a besoin de 45 à 50 % de protéines alimentaires, alors qu'un individu d'un an n'aura besoin que de 35 % de protéines alimentaires (Hilton & Slinger, 1981; NRC, 1981). Au niveau des facteurs abiotiques (température, salinité,...) on remarque que certaines espèces vont avoir des besoins variant avec les conditions environnementales, c'est par exemple le cas du saumon Chinook *Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum (1792) qui requiert 40 % de protéines à 8°C et 55 % à 15°C (Delong *et al.*, 1958). Cependant, dans la grande majorité des cas, les facteurs abiotiques influencent peu les besoins en protéines totales. Par ailleurs, les facteurs alimentaires jouent un rôle important dans les besoins protéiques. Le paramètre le plus important est l'apport d'énergie. En effet, un excès d'énergie dans l'aliment va limiter la consommation de celui-ci, car les poissons, comme les autres organismes, se nourrissent pour satisfaire leurs besoins énergétiques (Lee & Putnam, 1973). Il est donc intéressant d'exprimer les besoins protéiques par rapport à l'énergie contenue dans l'aliment (rapport PD/ED: protéines digestibles/énergie digestible).

La quantité optimale de protéines pour les poissons dépend essentiellement de la composition en acides aminés, de la valeur énergétique et de la digestibilité de l'aliment.

Tableau 1.2: Niveau protéique optimal pour diverses espèces de téléostéens.

Espèces	% protéique requis	Références
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	40	Zeitoun <i>et al.</i> , 1974*
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	40	Satia, 1973*; Zeitoun <i>et al.</i> , 1974*
<i>Cyprinus carpio</i>	31-38	Ogino & Saito, 1970*; Takeuchi <i>et al.</i> , 1979a*
<i>Pleuronectes platessa</i>	50	Cowey <i>et al.</i> , 1972*
<i>Sparus auratus</i>	40	Sabaut & Luquet, 1973*
<i>Pagrus major</i>	55	Yone, 1976*
<i>Morone saxatilis</i>	47	Millikin, 1983*
<i>Tilapia Zilli</i>	35	Mazid <i>et al.</i> , 1979*
<i>Tilapia mossambica</i>	40	Jauncey, 1982*
<i>Perca fluviatilis</i>	+/- 40	Fiogbé <i>et al.</i> , 1996

*Références issues de Halver (1989).

2.2 Besoins en acides aminés

Les poissons comme tous les autres animaux ont besoin d'un apport équilibré entre acides aminés essentiels et non-essentiels. Globalement les besoins en acides aminés essentiels sont similaires parmi les différentes espèces de poissons, mais sont également semblables à ceux des vertébrés supérieurs. Le tableau 1.3 résume les différents acides aminés essentiels chez différentes espèces de poissons. Les besoins en acides aminés peuvent être influencés par les facteurs abiotiques, ainsi les besoins en arginine sont influencés par la salinité chez les salmonidés. En effet, l'arginine est indispensable pour les poissons, à l'exception des espèces où le cycle de l'urée est réellement actif. Les besoins varient entre 2,0 et 6,0 g/16g d'azote. Cette variation pourrait être expliquée par la capacité variable de chaque espèce à produire de l'urée. Ainsi, la salinité de l'eau, de même que l'augmentation de l'ammoniacque ambiant seraient susceptibles d'accroître la synthèse d'urée (Mambrini & Guillaume, 1999).

Tableau 1.3: Les 10 acides aminés essentiels et les besoins quantitatifs requis chez différents téléostéens (g/16 g N). D'après Mambrini & Guillaume. (1999) et Fiogbé (1996)*.

Acides aminés	Anguille <i>Anguilla sp.</i>	Carpe <i>Cyprinus carpio</i>	Poisson-chat <i>Ictalurus punctatus</i>	Salmonidés -	Tilapia <i>Tilapia sp.</i>	Perche <i>Perca fluviatilis*</i>
Arginine	4,5	4,4	5,6	4,4	4,1	4,02
Histidine	2,1	2,4	1,5	1,6	1,7	2,0
Isoleucine	4,0	3,0	2,6	2,0	3,1	3,26
Leucine	5,3	4,7	3,5	3,6	3,4	4,99
Lysine	5,3	6,0	5,0	4,8	4,6	5,24
Méthionine + Cystine	3,2	3,5	2,3	3,3	3,2	2,19
Phénylalanine + Tyrosine	5,8	8,2	4,8	5,3	5,6	5,22
Thréonine	4,0	4,2	2,1	2,0	3,8	3,34
Tryptophane	1,1	0,8	0,5	0,6	1,0	-
Valine	5,8	8,2	4,8	5,3	5,6	3,75

2.3 L'épargne protéique

Depuis quelques années, des études menées chez de nombreuses espèces (surtout chez les salmonidés) ont pour but d'augmenter l'apport d'énergie digestible non protéique, principalement sous forme de lipides et d'hydrates de carbone (sources d'énergie meilleur marché). Cet apport lipidique permet l'utilisation des protéines pour la croissance, plutôt que comme source d'énergie, c'est ce qu'on appelle "l'épargne protéique" (Corraze, 1999). Cet effet d'épargne protéique permet non seulement de réduire la pollution du milieu par des matières azotées, mais aussi d'utiliser les lipides et/ou, dans une moindre mesure, les glucides comme source d'énergie en lieu et place des protéines, qui vont à leur tour pouvoir être utilisées de manière plus optimale pour la croissance (Phillips, 1969; Cowey & Sargent, 1979; Watanabe, 1982). Ceci a évidemment de nombreuses conséquences pour le pisciculteur et notamment une amélioration de la croissance des individus, une meilleure résistance aux pathologies,

une qualité organoleptique supérieure et une diminution des rejets de déchets azotés, liés au catabolisme protéique, polluants pour le milieu (85 % des déchets sont excrétés sous forme de NH₃ (Corraze *et al.*, 1999). On a ainsi pu remarquer que l'augmentation des teneurs lipidiques de 14 à 20 % chez la truite améliorait la croissance et ce même si les teneurs en protéines étaient diminuées (tableau 1.4). Cowey et Sargent (1979) ont conclu que l'augmentation de 10 à 20 % de lipides dans l'alimentation permettait une utilisation optimale des protéines sans altérer la qualité du poisson. De même, le passage de 0,5 à 6 % de lipides dans l'alimentation du turbot *Psetta maxima* L. permettait d'augmenter de 10 % l'utilisation des protéines pour la croissance (Bromley, 1980). Smith *et al.* (1979) ont montré que des géniteurs de truite arc-en-ciel nourris avec des aliments riches en énergie présentaient un plus haut taux de croissance et produisaient des oeufs plus grands (et donc plus résistants) que des géniteurs nourris avec des régimes pauvres en énergie. De nombreuses études ont montré ces effets d'épargne protéique liés à la présence de lipides chez les salmonidés (Ringrose, 1971; Lee & Putnam, 1973; Reinitz *et al.*, 1978; Takeuchi *et al.*, 1978a, b; Clarke *et al.*, 1982), le poisson chat américain *Ictalurus punctatus* L. (Stickney & Andrews, 1972; Garling & Wilson, 1976; Murray *et al.*, 1977; Lim *et al.*, 2001), le turbot (Adron *et al.*, 1976). Cependant il est intéressant de noter que chez certaines espèces telles que la perche *Perca fluviatilis* L. (Kestemont *et al.*, 2001b), le bar *Dicentrarchus labrax* L., le turbot (Peres & Oliva-Teles, 1999), la daurade royale *Sparus auratus* L., l'administration de régimes à haute énergie (riche en lipides) peut provoquer des effets néfastes tels que des retards de croissance, une accumulation de graisse au niveau des tissus hépatiques pouvant générer des stéatoses, une augmentation des dépôts lipidiques (Watanabe, 1982; Cowey, 1993; Hillestad & Johnsen, 1994; Grisdale-Helland & Helland, 1997), une mortalité accrue, une diminution de la teneur en eau (Robaina *et al.*, 1995; Robaina *et al.*, 1998; Spisni *et al.*, 1998). La stéatose peut se décrire comme une altération du foie se produisant lorsque la prise alimentaire en lipides est supérieure à la capacité de stockage hépatique, ce phénomène fut, entre autre, décrit chez la daurade royale par Kalogeropoulos *et al.* (1992) ainsi que par Penrith *et al.* (1994). Ceci générerait l'accumulation de vésicules lipidiques au sein d'organites cellulaires tels que les mitochondries ou le réticulum endoplasmique rugueux et dans le cas de stéatose plus sévère, des infiltrations lipidiques ont été observées au niveau du pancréas exocrine (Spisni *et al.*, 1998). Ces mêmes auteurs ont constaté qu'une accumulation de lipides (essentiellement des triglycérides) se produisait lorsqu'on passait d'une alimentation naturelle à artificielle

Chez la perche, la croissance et l'efficacité alimentaire sont corrélées avec la teneur lipidique de l'aliment. (Xu *et al.*, 2002). Ainsi un contenu lipidique de l'aliment de 12 et 18 % est bénéfique pour la croissance (Kestemont *et al.*, 2001b), en comparaison avec un régime contenant seulement 6 % de lipides. D'après Xu *et al.* (2002), lorsque des perches sont nourries avec un régime contenant 19,3 % de lipides et 41,6% de protéines, elles présentent le même taux de croissance que des perches nourries avec 11,7 % de lipides et 46,1 % de protéines. Ceci montre donc bien une meilleure utilisation des protéines pour la croissance, suite à la présence de lipides alimentaires. Les hydrates de carbone jouent également un rôle dans l'épargne protéique chez la plie *Pleuronectes platessa* L. (Cowey *et al.*, 1975), le bar (Alliot *et al.*, 1979) le turbot (Adron *et al.*, 1976). Il en va de même chez la carpe *Cyprinus carpio* L., Takeuchi *et al.* (1979b) ont nourri des carpes avec un repas contenant 32 % de protéines et des teneurs en lipides et hydrates de carbone (dextrine) variables. Ils ont ainsi pu observer qu'une augmentation lipidique de 5 à 15 % avec une diminution des hydrates de

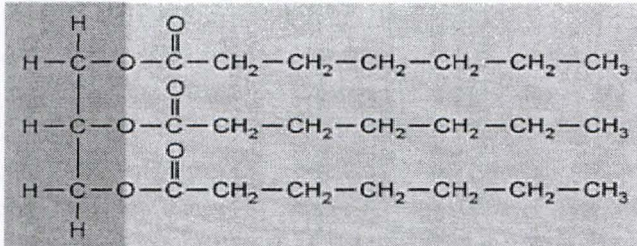
Qu'est-ce qu'un lipide?

Un lipide (du grec, *lipos*, graisse) est un corps gras d'origine animale ou végétale qui joue un grand rôle dans la structure cellulaire et dont la fonction énergétique est importante (37,6 kJ/g). Les lipides fournissent approximativement 1,8 fois plus d'énergie que les protéines et 2,5 fois plus que les glucides. Un lipide est une molécule amphipathique (du grec, *amphi*, double), c'est-à-dire qu'elle est formée de deux parties: une tête polaire et donc hydrophile et une queue non-polaire, donc hydrophobe. Les lipides sont solubles dans les solvants organiques non-polaires tels que le chloroforme, l'hexane, ... mais sont très peu solubles dans l'eau. La queue hydrophobe est constituée par les acides gras. Il existe principalement trois grandes familles de lipides: les lipides neutres (triacylglycérols ou triglycérides), les phospholipides et les stéroïdes.

Les lipides neutres ou triacylglycérols (triglycérides):

Glycerol

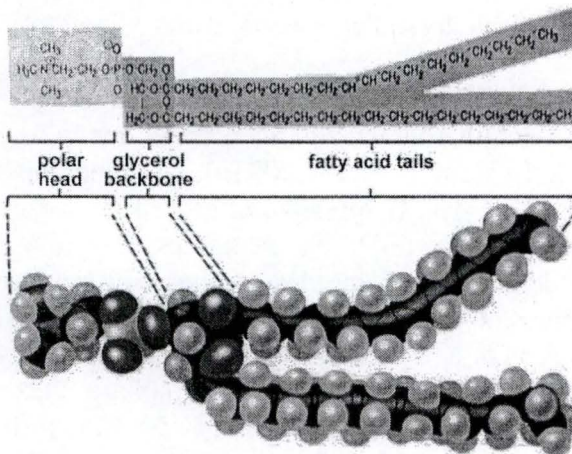
Fatty acids



Une molécule de triacylglycérol est constituée de 3 chaînes d'acides gras liées par liaisons ester au glycérol (un alcool), comme le montre le schéma ci-joint. Ces molécules ne possèdent pas de charges. Ces lipides jouent un rôle de stockage énergétique dans les cellules animales et végétales (39,7 kJ/g).

Lorsqu'un organisme dispose d'un excédant d'énergie fourni par l'alimentation, il s'en sert pour constituer des réserves sous forme de triglycérides. A l'inverse, lorsque les besoins augmentent, les molécules de triglycérides sont oxydées afin de fournir l'énergie nécessaire.

Les glycérophospholipides ou phospholipides:



Ces molécules ressemblent aux triglycérides, à la différence qu'elles ne sont composées que de deux chaînes d'acides gras, le troisième atome de carbone du glycérol étant lié à un groupement phosphate porteur d'une charge négative.

Les glycérophospholipides sont des composants essentiels de la membrane cellulaire. 1 gramme de phospholipides fournit en moyenne 33,4 kJ d'énergie brute.

carbone n'amélioreraient pas la croissance. Ceci démontre que la carpe utilise des hydrates de carbone comme source d'énergie.

Tableau 1.4: Effets des teneurs en lipides alimentaires sur l'efficacité d'utilisation des nutriments chez la truite. D'après Corraze (1999).

	Aliment classique	Aliment enrichi en lipides
Lipides (%)	14	20
Protéines (%)	44	37
Energie digestible (KJ/g)	17	17
Croissance (%/j)	1,91	2,21
Indice de consommation	1,31	1,10
Protéines (g) nécessaires par kg de production	575	412
N rejeté(g)/kg de production	63,5	39,7

3 Biosynthèse et dépôts lipidiques chez les téléostéens

3.1 Intérêt des lipides

Dans la nutrition animale, les classes de lipides les plus importantes sont les triacylglycérols ou triglycérides et les phospholipides. L'apport alimentaire en lipide est indispensable pour de nombreuses raisons: tout d'abord, les lipides fournissent les acides gras essentiels (AGE), acides gras que l'organisme ne peut synthétiser car il ne dispose pas des voies métaboliques nécessaires. Les lipides sont également les constituants majeurs des membranes biologiques et ils sont les vecteurs des vitamines liposolubles (A, D, E, K) et des pigments caroténoïdes lors de l'absorption intestinale. Enfin, les lipides sont une importante source d'énergie, rôle essentiel chez les poissons étant donné que ceux-ci digèrent mal les glucides (principale source d'énergie des êtres vivants) et que ceux-ci sont peu présents dans l'alimentation des poissons en milieu naturel. Comme nous l'avons vu au point 2.3, les lipides interviennent dans l'épargne protéique (Sargent *et al.*, 1989; Corraze, 1999).

Il faut noter que la nutrition lipidique des poissons diffère de celle des vertébrés supérieurs à plusieurs points de vue. Le milieu aquatique est en effet riche en acides gras polyinsaturés (Polyunsaturated Fatty Acids: PUFA) de la série n-3. Acides gras pour lesquels les poissons ont des besoins élevés contrairement aux vertébrés terrestres.

3.2 Les acides gras

3.2.1 Rôle des acides gras essentiels

Tout d'abord, les acides gras ont un rôle constitutif. En effet ils peuvent être estérifiés en phospholipides (molécules à 2 acides gras) qui sont eux-mêmes les lipides les plus abondants dans les membranes cellulaires et les lipoprotéines de transport. L'intégrité et la fluidité membranaire dépendent de la longueur des chaînes d'acides gras composant les phospholipides. Lors d'une variation de température, la composition en acides gras va être modifiée, et ce pour maintenir la fluidité membranaire. Ainsi, si la température diminue, on observe une augmentation des PUFA n-3 et une diminution

Les acides gras, structure et nomenclature:

Les acides gras sont des chaînes carbonées plus ou moins longues, possédant à une extrémité un groupement COOH et à l'autre extrémité un groupement méthyle (CH₃). Ils constituent les queues hydrophobes des lipides. Certains acides gras sont dits "saturés", ce qui signifie qu'ils sont dépourvus de doubles liaisons. Les acides gras saturés les plus couramment rencontrés dans les lipides membranaires contiennent 16 à 18 atomes de carbone, par exemple l'acide palmitique C16:0.

Par ailleurs, il existe des acides gras "mono-insaturés" et "polyinsaturés", ceux-ci contiennent respectivement une et plusieurs doubles liaisons. Le degré de saturation et la longueur de la chaîne hydrocarbonnée fixent le point de fusion de l'acide gras. Au plus il y a de doubles liaisons dans la molécule, au plus le point de fusion est bas. Exemple: l'acide stéarique C18:0 a un point de fusion de 69,6°C, le point de fusion de l'acide oléique C18:1 (n-9) est de 13,4°C et celui de l'acide linoléique C18:2 (n-6) est de -11°C. La longueur des chaînes par contre, augmente le point de fusion. Les membranes riches en acides gras insaturés seront donc plus fluides que celles contenant des acides gras saturés. Cette caractéristique est essentielle dans l'adaptation aux variations de température.

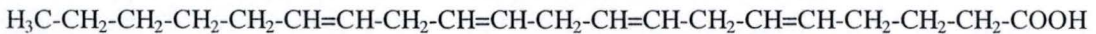
Nomenclature:

C_x:y (n-z) ou **C_x:y ωz**

Le terme **C_x** désigne le nombre d'atomes de carbone et **:y** le nombre de doubles liaisons.

Le terme **(n-z)** ou **ωz** désigne la position de la double liaison la plus proche du groupement méthyle (CH₃) terminal.

Soit l'acide arachidonique C20:4 (n-6) ou 20:4 (n-6) ou 20:4 ω6



L'acide arachidonique possède donc 20 atomes de carbone et 4 doubles liaisons, dont la première se situe au niveau du 6^{ème} atome de carbone après le groupement méthyle.

Exemple d'acides gras:

1) Acides gras saturés:

C16:0 Acide palmitique.

C18:0 Acide stéarique.

2) Acides gras insaturés:

C18:1 (n-9) Acide oléique.

C18:2 (n-6) Acide linoléique.

C18:3 (n-3) Acide linoléique.

C20:5 (n-3) Acide eicosapentaénoïque (EPA).

C22:6 (n-3) Acide docosahexaénoïque (DHA).

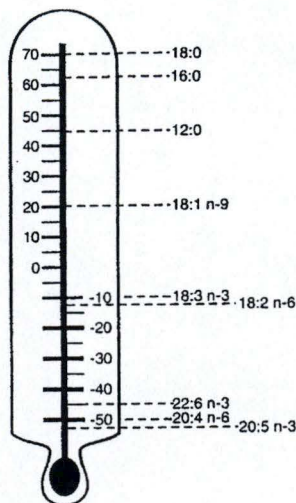


Figure 1.3: Comparaison du point de fusion de quelques acide gras. **18:0** acide stéarique, **16:0** acide palmitique, **12:0** acide aurique, **18:1 (n-9)** acide oléique, **18:3 (n-3)** acide linoléique, **18:2 (n-6)** acide linoléique, **22:6 (n-3)** acide docosahexaénoïque (DHA), **20:4 (n-6)** acide arachidonique (AA), **20:5 (n-3)** acide eicosapentaénoïque (EPA) (d'après Corraze, 1999).

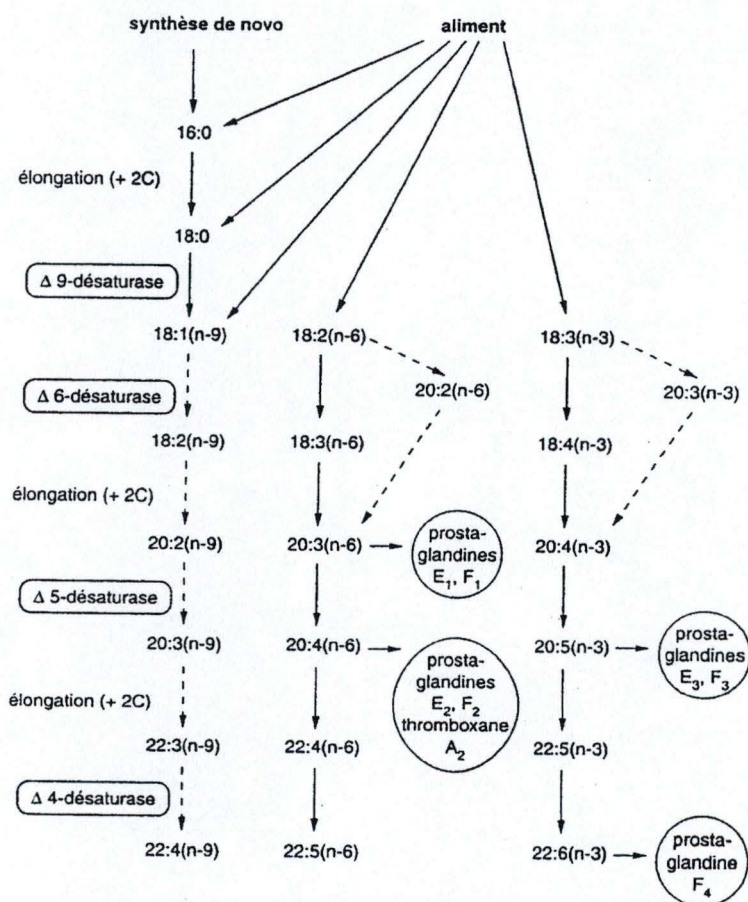


Figure 1.4: Schéma des principales voies de bioconversion des acides gras et de la synthèse de prostaglandines (d'après Bell *et al.*, 1986). — :voies principales, ----: voies mineures. Série (n-9): transformation se produisant chez les poissons d'eau douce, en cas de carence en acides gras essentiels.

des acides gras saturés. Ceci est logique, car au plus les acides gras sont insaturés (au plus le nombre de doubles liaisons est important) au plus leur point de fusion diminue (figure 1.3) (Sargent *et al.*, 1989; Corraze, 1999).

Deuxièmement, les acides gras servent de substrat pour la synthèse d'écosanoides (prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes), qui vont agir sur l'appareil circulatoire, le tube digestif, les reins, les organes reproducteurs. Chez les poissons, les fonctions les mieux connues se rapportent à la reproduction (les prostaglandines induisent l'ovulation, jouent le rôle de phéromones,...). Les prostaglandines (PG) sont synthétisées à partir des acides gras n-6 (PGE1, PGF1, PGF2,...), mais aussi à partir des acides gras n-3 (PGF3, PGF4,...) (figure 1.4). Les écosanoïdes résultant de la conversion (sous l'action de cyclooxygénases et lipoxygénases) de PUFA C20, tels que l'acide arachidonique (C20:4 (n-6) ou AA) et l'acide éicosapentaénoïque (C20:5 (n-3) ou EPA), sont aussi impliqués dans la régulation de l'immunité, soit par leurs effets directs sur les cellules (macrophages et lymphocytes) ou par leurs effets indirects via les cytokines (Lall & Olivier, 1993 ; Ashton *et al.*, 1994 ; Kiron *et al.*, 1995 ; Rowley *et al.*, 1995).

Troisièmement, la dégradation des acides gras, via les processus de β -oxydation, fournit de l'énergie (Sargent *et al.*, 1989).

Pour finir, les acides gras essentiels interviendraient comme second messager. C'est le cas de l'acide arachidonique qui agit comme médiateur sur les protéines kinases et les deux enzymes régulant la synthèse et la dégradation de l'AMP cyclique (AMP_c).

Vu tous ces rôles (précurseurs d'écosanoides, formation des phospholipides membranaires,...), les poissons ont d'importants besoins en acides gras (Sargent *et al.*, 1989, 1995).

3.2.2 Les acides gras essentiels chez les poissons

Deux séries d'acides gras sont essentielles tant aux poissons qu'aux mammifères, il s'agit des acides gras des séries n-3 et n-6. Cependant, au niveau des besoins quantitatifs, on observe des différences: en effet, chez les mammifères les besoins en PUFA n-6 sont supérieurs aux besoins en PUFA n-3, alors que chez les poissons d'eau froide, les besoins en PUFA n-3 sont supérieurs aux besoins en PUFA n-6. Les poissons d'eau chaude ont des besoins similaires dans les deux séries. Les besoins quantitatifs en acides gras sont résumés dans le tableau 1.5.

Une autre différence se marque entre les espèces d'eau douce et les espèces marines. En effet, les poissons d'eau douce ont besoin, comme les mammifères, de deux acides gras (l'acide linoléique C18:2 (n-6) et l'acide linoléique C18:3 (n-3)). A partir de ceux-ci, les téléostéens d'eau douce sont capables de synthétiser des PUFA n-3 (tels que le C20:5 (n-3)), comme nous le verrons au point 3.2.3 (Bell *et al.*, 1986; Henderson & Tocher, 1987; Linares & Henderson, 1991; Yang & Dick, 1994, Corraze, 1999). Par contre, les poissons marins ne semblent pas posséder cette capacité de synthèse du C20:5 (n-3) à partir de composés à 18 carbones. Ils leur manquent en effet, la $\Delta 5$ désaturase (voir point 3.2.3.2) (Sargent *et al.*, 1993, 1995). Ils doivent donc se procurer ces PUFA. Il s'agit entre autre de l'acide éicosapentaénoïque et de l'acide docosahexaénoïque (C22:6 (n-3) ou DHA), mais aussi d'un PUFA (n-6), l'acide arachidonique (Corraze, 1999). Ces individus marins semblent pouvoir se procurer facilement ces acides gras car, à la base de la chaîne alimentaire marine, se situent des organismes riches en ces acides gras. Exemple: les diatomées (Bacillariophyceae) ont tendance à être riches en C20:5 (n-3), les dinoflagellates (Dinophyceae) sont riches en C22:6 (n-3), les Chlorophyceae et les

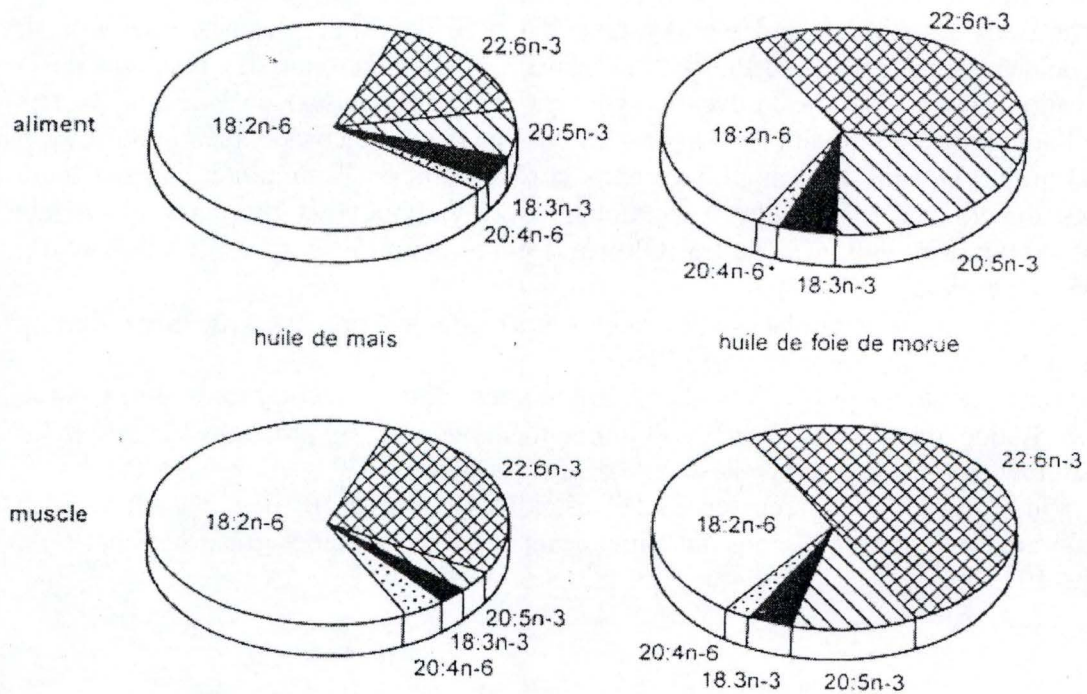


Figure 1.5: Influence de la nature des lipides alimentaires sur la composition en acides gras des muscles chez la truite (d'après Corraze, 1999).

Cryptophyceae sont riches en C18:4 (n-3) tandis que les Rhodophyceae sont riches en C20:4 (n-6). Les crustacés marins tels que les copépodes calanoïdes sont riches en C22:1 (n-11) et C20:1 (n-9) (Sargent *et al.*, 1989). En revanche, en eau douce, les acides gras présents dans les algues unicellulaires sont essentiellement des C18:3 (n-3) et C18:2 (n-6) alors qu'au niveau des invertébrés aquatiques, on trouvera essentiellement des C20:4 (n-6) et 20:5 (n-3) (Sargent *et al.*, 1989).

Il est intéressant de constater que la composition corporelle en acides gras est fortement corrélée à la composition des aliments en acides gras (figure 1.5). Ainsi, chez la truite alimentée avec un régime contenant 8 % d'huile de maïs (riche en C18:2 (n-6)), on constate une forte teneur en cet acide gras, alors que si l'aliment avait été à base d'huile de poisson (riche en acide gras de la famille n-3), ce sont les PUFA (n-3) qui auraient prédominé dans les tissus du poisson (Corraze, 1999).

En plus de se procurer les acides gras essentiels dans leur alimentation, les poissons ont également la capacité de synthétiser *de novo* ces acides gras, comme nous le verrons au point 3.2.3.

Tableau 1.5: Besoins en acides gras chez différentes espèces de téléostéens.

Espèces	Acides gras essentiels	Besoin (en % de la ration alimentaire)	Références
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	C18:3 (n-3)	0,8 à 1,7	Watanabe <i>et al.</i> , 1974a
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	C18:3 (n-3)	1,0 à 2,5	Yu & Sinnhuber, 1979
<i>Ictalurus punctatus</i>	C18:2 (n-6), C18:1 (n-9), C18:3 (n-3)	Moins de 1 % Moins de 1%	Stickney <i>et al.</i> , 1983
<i>Anguilla japonica</i>	C18:2 (n-6) C18:3 (n-3)	0,5 0,5	Takeuchi <i>et al.</i> , 1980
<i>Cyprinus carpio</i>	C18:2 (n-6) C18:3 (n-3)	1 1	Takeuchi & Watanabe, 1977
<i>Tilapia zilli</i>	C18:2 (n-6) ou C20:4 (n-6)	1	Kanazawa <i>et al.</i> , 1980
<i>Psetta maxima</i>	PUFA (n-3)	0,8	Gatesoupe <i>et al.</i> , 1977

Cependant, lorsque l'apport en acides gras essentiels est déficient, des troubles de la croissance, une augmentation de la sensibilité aux infections bactériennes, une diminution de l'hémoglobine des globules rouges apparaissent. Ces symptômes liés à un déficit en acides gras essentiels ont été observés chez de nombreuses espèces parmi lesquelles la truite arc-en-ciel (Castell *et al.*, 1972; Watanabe *et al.*, 1974a), l'anguille *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel (1847) (Takeuchi *et al.*, 1980), le tilapia zilli *Tilapia zilli* Gervais (1848) (Kanazawa *et al.*, 1980), la daurade japonaise *Pagrus major* Temminck & Schlegel (1843) (Fujii & Yone, 1976) et le turbot (Cowey *et al.*, 1976; Bell *et al.*, 1985).

Des expériences réalisées sur le turbot par Bell *et al.* (1985) ont montré que des poissons nourris avec des aliments ne contenant pas de PUFA présentaient une érosion des nageoires dorsales et caudales, de même qu'une érosion de la mâchoire inférieure. Cowey *et al.* (1976) observèrent également une augmentation du contenu en lipide hépatique chez les turbots déficitaires en PUFA. Une observation similaire fut réalisée chez les salmonidés par Watanabe *et al.* (1974b) et Takeuchi *et al.* (1979c). Chez les rats ayant un régime dépourvu en acides gras essentiels (n-6), l'accumulation de lipides dans le foie résulterait d'un affaiblissement de la biosynthèse de lipoprotéines (les Very Low Density Lipoprotein: VLDL), ce qui empêche le transfert des lipides du foie vers d'autres tissus (Fukuzawa *et al.*, 1971). Les mêmes perturbations dans le transport lipidique existent chez les poissons. Un

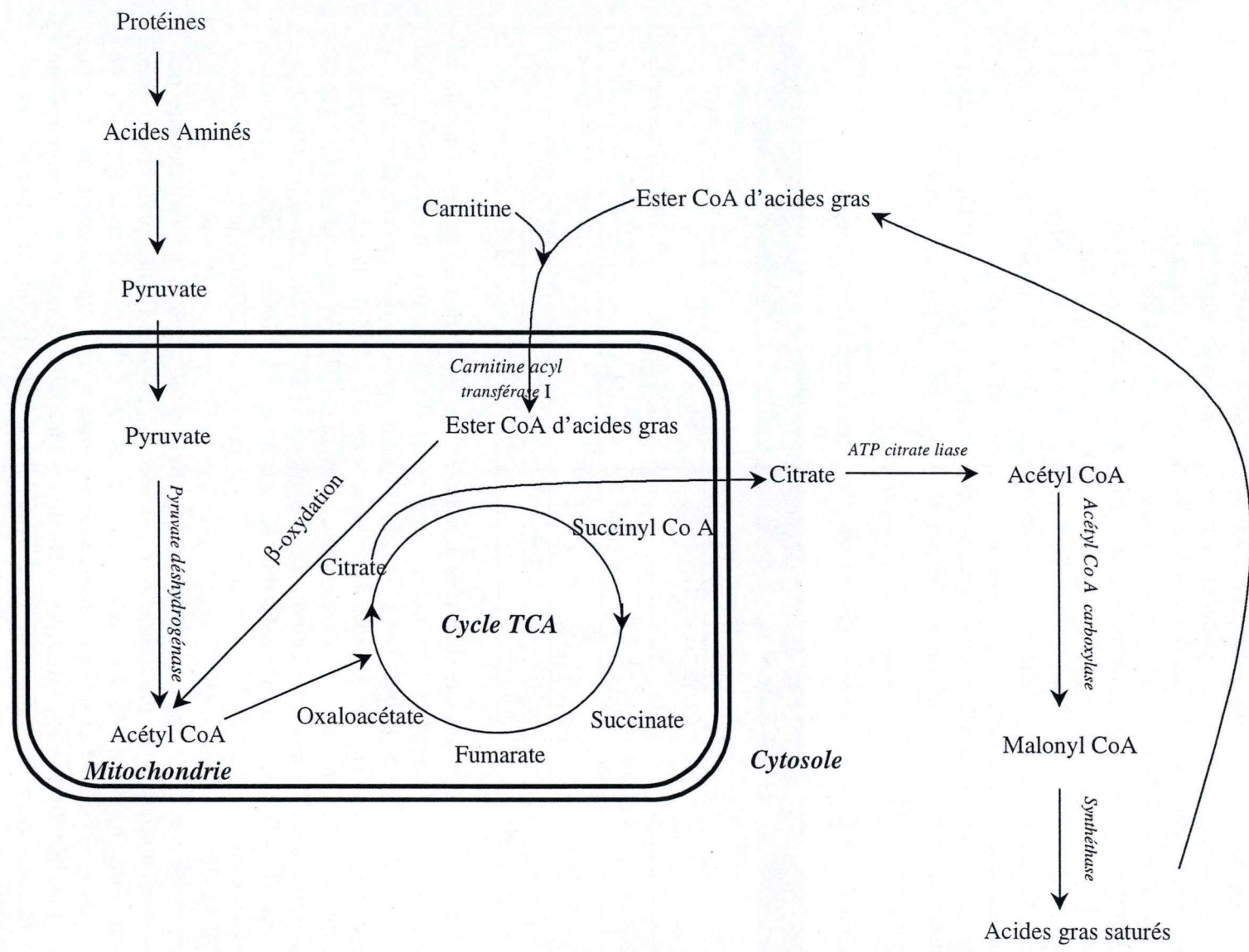


Figure 1.6: Métabolisme des acides gras (d'après Rawn, 1990).

taux de respiration élevé, des saignements branchiaux,...sont d'autres exemples de pathologies liées au déficit en acides gras (Sargent *et al.*, 1989).

D'autre part, la reproduction des individus est influencée par la teneur des géniteurs en acides gras. Ainsi, des truites arc-en-ciel nourries, durant les 3 mois précédant la ponte, avec des aliments ne contenant pas de PUFA produisent moins d'oeufs et ont un taux d'éclosion plus faible que les individus nourris avec un régime normal (Watanabe *et al.*, 1984). De même, 90 % des oeufs produits par des daurades japonaises déficitaires en acides gras essentiels présentent des anomalies et les rares oeufs qui éclosent donnent naissance à des larves présentant des malformations (Watanabe, 1982). De même, les acides gras essentiels pour la survie et le développement des larves sont directement issus des réserves lipidiques des géniteurs (Sargent, 1995; Wiegand, 1996; Bell, 1998). Le développement et la croissance des tissus larvaires sont des processus dispendieux en acides gras essentiels. (Voir aussi le point 4.3.2 et 4.3.3).

3.2.3 Métabolisme des acides gras

3.2.3.1 Synthèse de novo des acides gras

Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'alimentation fournit une bonne partie des acides gras, mais d'autres proviennent de précurseurs non-lipidiques qui se trouvent au sein des tissus du poisson. En effet, les graisses, protéines et hydrates de carbone peuvent être en excès dans l'alimentation. Ces surplus énergétiques seront stockés sous forme de graisses. La capacité de stockage des hydrates de carbone sous forme de glycogène est limitée et la plupart des animaux ne possèdent pas de protéines de stockage. Il doit donc exister un mécanisme qui permet le stockage direct de ces composés. Cette considération permet de poser l'hypothèse que les animaux sont capables de transformer les surplus énergétiques non-grasseux en graisses. (Sargent *et al.*, 1989; Dias, 1999)

Les voies de synthèse des acides gras, à partir de précurseurs non-lipidiques chez les poissons, sont très semblables à celles des mammifères. Bien que le glucose soit utilisé comme source de carbone pour la synthèse des acides gras chez les animaux, le cas des poissons est tout autre. En effet, leur régime alimentaire riche en protéines leur fournit des acides aminés en grandes quantités qui serviront de source de carbone principale à la biosynthèse des acides gras (Henderson & Sargent, 1981) (figure 1.6). Ces composés carbonés sont transformés en pyruvate et pénètrent alors dans la mitochondrie où, sous l'action d'une *pyruvate déshydrogénase*, ils sont transformés en acétyl CoA. Cet acétyl CoA entre dans le cycle des acides tricarboxyliques (TCA) et du citrate est libéré. Celui-ci sort alors de la mitochondrie et se retrouve dans le cytosol où il est clivé en oxaloacétate et acétyl CoA par une *ATP citrate liase*. L'acétyl CoA ainsi produit va servir de substrat pour la première enzyme de synthèse des acides gras: l'*acétyl CoA carboxylase*. L'association enzyme-substrat produit du malonyl CoA qui est utilisé par un complexe de *synthétase* pour produire les acides gras (Sargent *et al.*, 1989 ; Rawn, 1990 ; Dias, 1999). Ces acides gras seront ensuite incorporés par réaction d'estérification dans les phospholipides et les triacylglycérols (voir point 3.2.3.2).

Alors que l'alimentation apporte à la fois des acides gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés, la biosynthèse ne produit que des acides gras saturés. Ainsi, Wilson et Williamson (1970) ont montré que des complexes de synthétases issus de foies de plies produisaient des acides gras saturés C16:0 et C18:0. Pour généraliser, on peut

dire que ces complexes produisent des acides gras saturés d'une longueur de 12 à 18 carbones. Evidemment, le taux de biosynthèse des acides gras est influencé par l'apport alimentaire en acides gras. Ainsi la synthèse augmente lorsque l'apport en acides gras est faible et inversement.

Alors que chez les vertébrés supérieurs tels que la vache (Hood *et al.*, 1972) ou le chat (Richard *et al.*, 1989), la synthèse d'acides gras a lieu dans les tissus adipeux, chez les poissons, elle se déroule essentiellement dans le foie. Cependant, chez la truite arc-en-ciel, par exemple, les tissus adipeux et les ovaires ont également une capacité de biosynthèse (Henderson & Sargent, 1981; Lin *et al.*, 1977a, b; Weigand & Idler, 1982). De même, chez l'anguille américaine *Anguilla rostrata* Lesueur (1817), Aster & Moon (1981) montrèrent que l'activité des enzymes impliquées dans la lipogenèse était identique tant dans les tissus adipeux que dans le foie. En plus du foie et des tissus adipeux, de nombreux autres tissus (coeur, ovaires, muscles, épithélium intestinal) ont des capacités de lipogenèse (Robinson & Mead, 1973; Aster & Moon, 1981; Bailey & Driedzic, 1993; Pelster *et al.*, 1997).

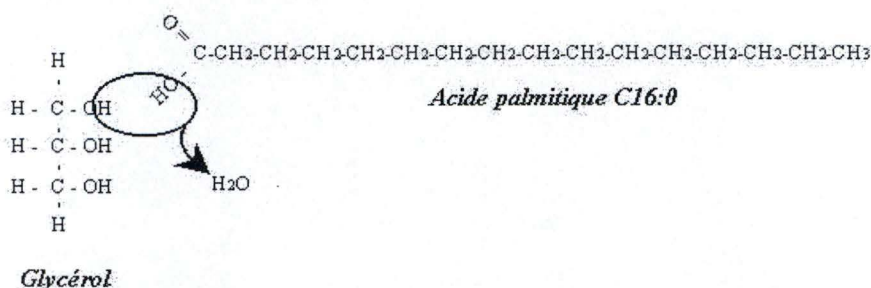
3.2.3.2 Modification des acides gras

Les acides gras provenant de l'alimentation et de la synthèse endogène sont des substrats potentiels pour toute une série de systèmes enzymatiques.

a) *Estérification*

La plupart du temps, on ne trouve pas les acides gras sous formes libres, mais plutôt sous formes estérifiées (phospholipides et triacylglycérols). Après la digestion des lipides alimentaires, les acides gras sont absorbés dans les entérocytes avec du 2-monoacylglycérol résultant de la dégradation des triacylglycérols par les *lipases pancréatiques* (Gurr & Harwood, 1991). Dans les cellules intestinales, les acides gras sont ré-estérifiés avec le monoacylglycérol pour reformer les triacylglycérols. Henderson et Tocher (1987), Sheridan (1988) et Iijima *et al.* (1990) montrèrent que des processus similaires se produisaient chez les poissons. Les triglycérides sont transportés dans le sang sous forme de chylomicrons (voir point 3.3.2) vers les tissus de stockage. Mais avant de pouvoir être déposés, ces triglycérides sont hydrolysés en acides gras par les *lipoprotéines lipases*. Les acides gras ainsi obtenus sont absorbés par les cellules musculaires et adipeuses et y sont ré-estérifiés en triacylglycérols. L'absorption et l'estérification des acides gras alimentaires dans les triglycérides musculaires et adipeux permettent de comprendre l'influence de la composition alimentaire en acides gras sur la composition en acides gras des tissus adipeux et musculaires. Cependant, la chair n'a pas exactement la même composition en acides gras que l'alimentation, ceci s'explique par le fait que les acides gras se déposant dans les organes de stockage proviennent aussi de la synthèse *de novo* et des acides gras alimentaires modifiés par désaturation / élongation (Henderson, 1996).

Exemple de réaction d'estérification:



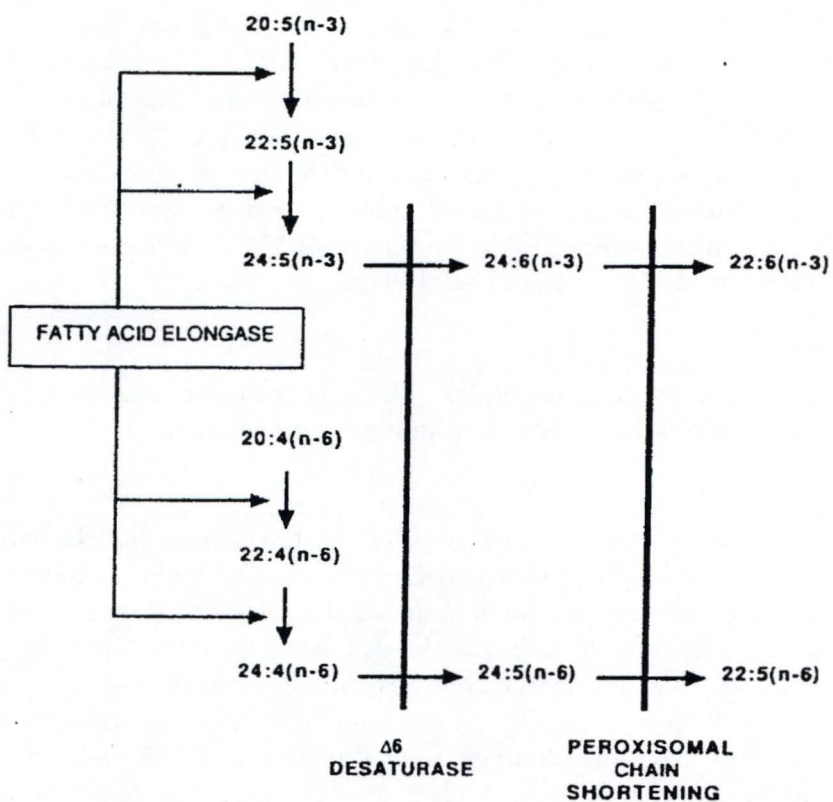


Figure 1.7: Voies de conversions des PUFA, postulées sans l'action de la Δ^4 désaturase (d'après Voss *et al.*, 1991).

b) Réduction

Dans ce processus, les acides gras sont d'abord convertis en leurs dérivés CoA. C'est sous cette forme, qu'ils vont être réduits en alcool gras par une *acyl CoA reductase* (Kayama *et al.*, 1979). Ces composés formés par l'*acyl CoA reductase* sont rapidement estérifiés en d'autres classes de lipides. Par exemple, l'alcool gras peut être estérifié avec le dihydroxyacétone phosphate pour former le plasmalogène, que l'on trouve en petite quantité dans certains tissus de poissons, tels que le cerveau (Bell & Dick, 1993). Chez la carpe, Kayama *et al.* (1979) ont montré que l'hépatopancréas présentait cette capacité de réduction des acides gras.

c) Elongation / désaturation

Les poissons possèdent des systèmes enzymatiques (les désaturases) qui sont capables de modifier par élongation et désaturation les acides gras synthétisés *de novo* ou absorbés avec les aliments. Par exemple, la $\Delta 9$ désaturase ajoute une double liaison au niveau du 9^{ème} carbone d'un acide gras saturé. Ainsi le C18:0, sous l'action de la $\Delta 9$ désaturase devient du C18:1 (n-9) (Gurr & Harwood, 1991).

Cependant, comme beaucoup d'autres organismes, les poissons d'eau douce ne possèdent pas la $\Delta 12$ désaturase qui permet de former à partir de C18:1 (n-9) de l'acide linoléique C18:2 (n-6). De plus, il leur manque aussi la $\Delta 15$ désaturase qui permet la conversion de l'acide linoléique C18:2 (n-6) en acide linoléique C18:3 (n-3). En conséquence, les poissons sont incapables de synthétiser *de novo* des PUFA à partir de précurseurs non-lipidiques. Il faut donc que ces PUFA n-3 et n-6 soient apportés par l'alimentation (Henderson, 1996). Les végétaux étant les seuls à synthétiser ces acides gras, ce sont eux qui fourniront ces composés essentiels à tous les individus de la chaîne trophique (voir aussi le point 3.2.2).

Les poissons d'eau douce possèdent différentes enzymes qui permettent ces processus de désaturation et d'élongation, ce sont les $\Delta 4$ désaturase, $\Delta 5$ désaturase, $\Delta 6$ désaturase et $\Delta 9$ désaturase (Henderson & Tocher, 1987). L'action combinée des ces enzymes permet de former du C22:6 (n-3), l'un des acides gras les plus fréquents dans les lipides de poissons (figure 1.4). L'aliment apporte les acides gras essentiels tels que le C18:3 (n-3), celui-ci est désaturé par la $\Delta 6$ désaturase en C18:4 (n-3). Ce C18:4 (n-3) est alors allongé en C20:4 (n-3) qui est à son tour désaturé par la $\Delta 5$ désaturase en C20:5 (n-3). Un nouveau processus d'élongation suivi d'une désaturation par la $\Delta 4$ désaturase, mène au C22:6 (n-3) (Henderson, 1996).

Cependant, l'existence de la $\Delta 4$ désaturase ne semble pas claire. En effet, selon Voss *et al.* (1991), le C22:6 (n-3) serait produit comme montré sur la figure 1.7. Ils proposent que le C20:5 (n-3) soit allongé en C22:5 (n-3) et ensuite en C24:5 (n-3). Vient ensuite une désaturation en C24:6 (n-3) par la $\Delta 6$ désaturase. Cet acide gras est alors raccourci en C22:6 (n-3) au cours d'un processus de β -oxydation qui a lieu dans le peroxyosome. On le voit, ce processus ne nécessite que la $\Delta 5$ et $\Delta 6$ désaturase, deux enzymes présentes chez les poissons d'eau douce. Cette nouvelle voie n'est pas certaine, mais la présence de C24:5 (n-3) et C24:6 (n-3) dans les hépatocytes de brochet renforce l'idée qu'elle pourrait exister.

Xu et Kestemont (2002) mirent en évidence la capacité d'élongation/désaturation chez la perche. Ainsi, les fortes concentrations en DHA et les faibles concentrations en EPA dans les lipides des différents tissus peuvent-être mis en relation avec une importante activité enzymatique des $\Delta 5$ et $\Delta 6$ désaturases, ce qui mène à une accumulation de DHA.

Comme nous l'avons déjà mentionné plus haut, les poissons marins ont quant à eux des besoins en acides gras plus longs, tels que le C20:5 (n-3), C22:6 (n-3) et C20:4 (n-

6). Ceci s'explique par le fait qu'ils ne disposent pas de la $\Delta 5$ désaturase (Sargent *et al.*, 1993, 1995).

d) La β -oxydation

En cas d'effort important, l'oxydation des protéines fournit de l'énergie, mais l'oxydation des acides gras y contribue également dans une large mesure. Les processus d'oxydation des acides gras peuvent intervenir de manière importante dans la production d'énergie au cours de périodes durant lesquelles l'apport alimentaire est faible, telles que la maturation gonadale ou les périodes de jeûne (Henderson, 1996). Les acides gras mobilisés depuis les réserves lipidiques sont transportés dans le plasma jusqu'aux tissus où l'oxydation en acides gras libres prendra place (Sheridan, 1988). Chez la truite, l'oxydation des acides gras se déroule essentiellement dans le coeur et les muscles de la ligne latérale, alors que les reins, le foie et les muscles blancs n'ont qu'une capacité limitée d'oxydation des acides gras (Bilinski & Jonas, 1970). Dans les cellules animales, la β -oxydation prend place dans deux organites, la mitochondrie et le peroxyosome (Gurr & Harwood, 1991). Le processus de β -oxydation se déroule comme suit (figure 1.6): les acides gras sont convertis en acyl-CoA. Ceux-ci se combinent alors à la carnitine pour former une acylcarnitine, ce qui permet le passage dans la mitochondrie. Une fois au sein de la matrice mitochondriale, l'acylcarnitine est reconvertie en acyl-CoA. Cet ester CoA d'acide gras devient le substrat pour les quatre enzymes de la β -oxydation, qui forment un acétyl-CoA. Celui-ci entre alors dans le cycle des acides tricarboxyliques (TCA) pour une dégradation complète.

Murata et Higashi (1979) montrent que certains acides gras sont utilisés préférentiellement pour la β -oxydation. Par exemple chez la carpe, les C16:1 et C18:1 sont oxydés à un plus haut taux que les acides gras saturés et polyinsaturés.

La β -oxydation dans les peroxyosomes diffère sensiblement de celle des mitochondries. Tout d'abord, la carnitine n'est pas impliquée dans le passage transmembranaire des acides gras, deuxièmement l'oxydation est catalysée par une *acyl-CoA oxidase* qui transfère deux hydrogènes du substrat à de l'oxygène moléculaire, pour former de l' H_2O_2 . Enfin, il n'y a pas moyen de régénérer le NAD^+ à partir du NADH dans les peroxyosomes. Ces observations furent réalisées sur des cellules de mammifères (Gurr & Harwood, 1991). Ces mêmes auteurs ont constaté que la β -oxydation dans les peroxyosomes était incapable d'oxyder complètement les longues chaînes d'acyl-CoA.

3.3 Métabolisme lipidique

3.3.1 Digestibilité des lipides

En général, les lipides sont bien digérés, sauf si, du fait de leur point de fusion élevé, ils sont solides à la température du milieu. Ainsi, les PUFA sont extrêmement bien digérés. Chez le saumon atlantique *Salmo salar* L., le coefficient d'utilisation digestive (CUD, un coefficient qui quantifie la digestibilité) des PUFA est de 90 % lorsqu'ils sont ingérés sous la forme de triacylglycérols et 98 % sous la forme d'acides gras libres. Au niveau des acides gras saturés, l'utilisation digestive est plus faible et celle-ci diminue avec l'allongement de la chaîne carbonée. Par exemple le CUD est de 70% pour le C14:0 et de 50 % pour le C18:0 (Corraze, 1999).

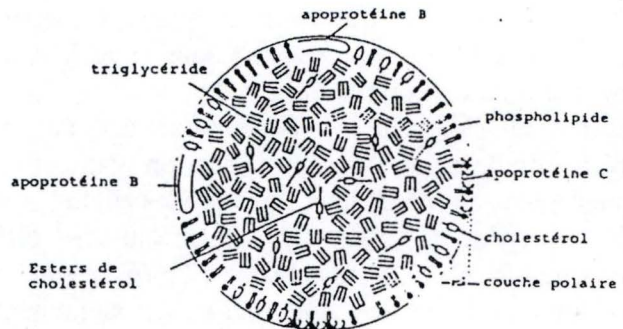
Qu'est-ce qu'une lipoprotéine?

Il s'agit d'une association entre des protéines et des lipides. Les lipoprotéines transportent les lipides (triacylglycérols, phospholipides, cholestérol et ses esters) vers divers tissus. On les classe suivant leur densité, il existe ainsi les LDL (*low density lipoprotein*), les VLDL (*very low density lipoprotein*), les HDL (*high density lipoprotein*) et les chylomicrons (particules de grande taille et de très faible densité). HDL et VLDL sont synthétisées par le foie. Les LDL dérivent des VLDL et transportent le cholestérol et ses esters. Les chylomicrons sont originaires de l'intestin et transportent essentiellement les triacylglycérols. Les phospholipides sont transportés essentiellement par les HDL. Toutes les lipoprotéines ont une structure commune: un noyau de triacylglycérols et d'ester de cholestérol. Le tout est entouré par une gaine constituée de phospholipides, cholestérol et apoprotéines (protéines ayant pour but de maintenir la structure des lipoprotéines, voir le schéma ci-joint).

	<i>Chylomicrons</i>	<i>VLDL</i>	<i>LDL</i>	<i>HDL</i>
Densité	< 1.006	0.95-1.006	1.006-1.063	1.063-1.210
Composition chimique en %				
Triacylglycérol	85	50	10	4
Cholestérol libre	1	7	8	2
Esters de cholestérol	3	12	37	15
Phospholipides	9	18	20	24
Protéines	2	10	23	55
Principales apoprotéines	A-I, B, C	B, C-I, C-II, C-III, E	B	A-I, A-II

Composition des lipoprotéines plasmatiques. D'après Kritchevsky, (1986).

Schéma d'une lipoprotéine. D'après Fauconneau *et al.* (1990):



Pour permettre la digestion des graisses, les poissons utilisent différentes sécrétions et enzymes (Guillaume & Choubert, 1999):

1) La bile: elle est synthétisée par le foie et est déversée dans l'intestin au niveau du caecum pylorique. Elle est alcaline, contient diverses enzymes digestives et des sels biliaires. Elle a pour but d'émulsifier les graisses.

2) Les enzymes permettant la digestion des graisses sont des lipases, enzymes du groupe des hydrolases qui libèrent, à l'aide des colipases, les acides gras constitutifs des triacylglycérols. Elles sont sécrétées par le pancréas.

Les triacylglycérols sont hydrolysés en 2-monoacylglycérols et en acides gras libres (Tocher & Sargent, 1984). Le 2-monoacylglycérol peut être hydrolysé en glycérol par d'autres enzymes. Les esters de stérols sont hydrolysés en acides gras libres et en stérols (Tocher & Sargent, 1984). Les phospholipides sont hydrolysés en lysophospholipides. Après l'action de ces enzymes, nous obtenons donc un mélange (sels biliaires, 2-monoacylglycérol, glycérol, acides gras libres, alcool gras, lysophospholipides et stérols) qui est absorbé au niveau des cellules épithéliales de l'intestin. Les acides gras libres sont alors ré-estérifiés dans les citernes du réticulum endoplasmique de ces cellules, avec le monoacylglycérol, le glycérol et les lysophospholipides pour former les triacylglycérols et les phospholipides, comme nous l'avons mentionné précédemment (Bauermeister & Sargent, 1979).

3.3.2 *Transport des lipides*

Après digestion, absorption et ré-estérification, les lipides sont transportés jusqu'au foie, au sein de structures lipoprotéiques: les chylomicrons et VLDL (very low density lipoprotein) et ce via le système porte-hépatique et les voies lymphatiques.

Les lipides parvenus au foie et ceux synthétisés *de novo* sont alors complexés avec du cholestérol (libre et/ou estérifié) ainsi que des apoprotéines pour former de nouvelles lipoprotéines. Le transport des lipides du foie vers d'autres organes se réalise via les VLDL, les LDL (low density lipoprotein) et les HDL (high density lipoprotein). Chez de nombreuses espèces, parmi lesquelles la carpe et le turbot, les lipoprotéines majoritaires sont les HDL. Cependant, des différences se marquent en fonction de l'âge, du cycle sexuel et de l'espèce. Ainsi chez la truite immature, on constate que VLDL et LDL sont prédominantes, alors que chez l'adulte les HDL sont les plus abondantes (80 % des lipoprotéines sont des HDL, 10 % sont des LDL et moins de 10 % sont des VLDL). A côté du transport lipidique par les lipoprotéines, une faible portion d'acides gras est véhiculée sous la forme d'un complexe avec l'albumine (Fauconneau *et al.*, 1990; Corraze, 1999).

Une autre lipoprotéine existe chez les poissons, il s'agit de la vitellogénine, nous en reparlerons (voir le point 4.2.3.2).

3.3.3 *Le stockage lipidique*

Alors que chez les vertébrés supérieurs, les lipides corporels sont stockés en grande majorité dans les tissus adipeux, chez les téléostéens, il existe une large gamme de tissus de stockage. Il s'agit principalement des tissus adipeux sous-cutanés et mésentériques, du foie et des muscles (Sheridan, 1988). La localisation des dépôts lipidiques diffère d'une espèce à l'autre et va permettre d'établir une classification des poissons en différentes catégories (Ackman, 1995). Ainsi des espèces telles que le maquereau *Scomber scombrus* L., l'anguille *Anguilla sp* ou le hareng *Clupea harengus* L., qui ont des teneurs en lipides musculaires supérieures à 10 %, font partie

des "poissons gras", le foie servant peu au stockage des lipides (Corraze, 1999). Par ailleurs, les "poissons maigres" sont ceux dont les teneurs en lipides musculaires sont inférieures à 2 %, telle que la morue *Gadus morhua* L. Dans ce cas, la majorité des lipides est stockée dans le foie (50 à 75 % du poids frais du foie) (Love, 1970; Ackman, 1980; Holdway & Beamish, 1984; Jobling *et al.*, 1991; Ando *et al.*, 1993; Hemre *et al.*, 1993; Lambert & Dutil, 1997; Corraze, 1999). Chez la perche, le contenu lipidique de la chair est proche de 1 % (Ågren *et al.*, 1987; Kestemont *et al.*, 2001b; Mathis *et al.*, 2002). Le tableau 1.6 résume les teneurs en lipides de différentes espèces de poissons. Entre ces deux catégories, il existe les "poissons intermédiaires" qui stockent des lipides (de 2 à 10 %) dans les muscles (Ackman, 1995; Corraze, 1999). Cependant dans ce groupe, il existe une très grande variabilité dans les zones de stockage, par exemple chez la daurade royale et la truite arc-en-ciel, les sites de dépôts lipidiques préférentiels sont les graisses mésentériques avec peu de lipides stockés au niveau du foie (< 7 % du poids frais) (Sheridan *et al.*, 1983; Henderson & Tocher (1987); McClelland *et al.*, 1995). Par ailleurs, chez le bar, le foie peut contenir 20 à 30 % de lipides, bien que le site de stockage lipidique principal soit les graisses mésentériques (Sterling, 1976; McClelland *et al.*, 1995). De même chez le thon rouge du nord *Thunnus thynnus thynnus* L., le site de dépôt lipidique principal est situé au niveau des graisses mésentériques périgonadales. Cependant le foie peut contenir jusqu'à 20 % de lipide. Cet organe ne semble pas être un site de stockage important, mais il possède une forte capacité de synthèse *de novo* et il joue un rôle dans la transformation des acides gras issus d'autres zones de dépôts (muscles et graisses mésentériques) avant leur transfert vers les ovaires (Mourente *et al.*, 2002).

Tableau 1.6: Teneur en lipides dans les muscles et le foie de différentes espèces de téléostéens. (% de matière fraîche). D'après Cowey & Sargent (1972), Henderson & Tocher (1987).

Espèces	Concentrations en lipides (%)	
	Muscles	Foies
<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	0,3	50-75
<i>Gadus morhua</i>	0,4	50-75
<i>Hippoglossus hippoglossus</i>	5	4-28
<i>Salmo salar</i>	4-10	10
<i>Cyprinus carpio</i>	1,5-12,5	4,8-8,8
<i>Scomber scombrus</i>	13	8
<i>Clupea harengus</i>	11	2

Par ailleurs, Henderson et Tocher (1987) ont montré qu'il existait une répartition hétérogène des lipides dans la musculature des poissons. Ainsi, les muscles ventraux contiennent plus de lipides que les muscles dorsaux, de même la partie antérieure est elle même plus riche que la partie postérieure du poisson. Chez le flétan *Hippoglossus hippoglossus* L., les teneurs en lipides passent de 7 % dans la région antérieure ventrale à 4 % dans la région antérieure dorsale et à 2 % dans la queue (Nortvedt & Tuene, 1998).

Avant d'être stockés, les triacylglycérols (principale molécule de stockage lipidique) circulant dans le plasma au sein des lipoprotéines sont hydrolysés en acides gras et glycérol. C'est pourquoi les tissus de stockage doivent posséder des capacités d'estérification pour reformer le triacylglycérol.

Chez la perche, les surplus lipidiques sont déposés essentiellement autour des viscères et dans une moindre mesure dans le foie, plutôt que dans les muscles (Xu *et al.*,

2002). Le tableau 1.7 reprend les contenus lipidiques musculaires et hépatiques chez la perche.

Tableau 1.7: Proportions relatives des lipides totaux (g/100g de tissus frais) et des principaux groupes d'acides gras (en % de poids frais) chez la perche sauvage au mois de mars (Ågren *et al.*, 1987) et chez la perche d'élevage (Xu *et al.*, 2002).

Teneurs lipidiques du régime	Perches sauvages		Perches d'élevages 11,7 %		Perches d'élevages 19,3 %	
	Muscles	Foies	Muscles	Foies	Muscles	Foies
Lipides totaux	0,8	-	5,1	12,4	5,0	23,8
Acides gras saturés	21,9	25,2	28,8	26,0	30,6	25,5
Acides gras monoinsaturés	16,6	12,5	18,3	35,8	15,2	35,0
Acides gras polyinsaturés	61,5	62,3	53,5	35,8	53,6	36,2
Acides gras polyinsaturés (n-3)	50,9	48,3	47,3	26,6	48,7	28,5
Acides gras polyinsaturés (n-6)	10,6	14,0	6,2	9,2	4,9	7,7

3.3.3.1 Facteurs naturels conditionnant le stockage des lipides

Nombreux sont les facteurs qui peuvent influencer le contenu lipidique et la composition des tissus des poissons.

a) Etat physiologique, âge, sexe

Généralement, on remarque que la teneur en lipides augmente avec l'âge et la taille de l'individu (Henderson & Tocher 1987; Corraze, 1994), alors que d'autres constituants majeurs des tissus, tels que les protéines, sont peu affectés par la croissance corporelle. Les changements les plus importants du contenu lipidique des poissons se marquent généralement au cours des processus reproducteurs. En effet, durant cette période, les lipides sont mobilisés à partir des réserves, non seulement pour couvrir les besoins énergétiques, mais aussi pour permettre le développement gonadal (Dias, 1999). Ainsi, chez les salmonidés en période de maturation sexuelle, on note que le contenu lipidique des tissus musculaires est réduit de 40 à 60 % et celui des tissus adipeux mésentériques l'est de plus de 70 % (Aksnes *et al.*, 1986; Nassour & Léger, 1989). Comme nous le verrons par après, il existe une différence liée au sexe, vu que les femelles mobilisent plus de lipides pour le développement des gonades que les mâles (Henderson & Tocher, 1987). Un autre exemple est celui du capelin *Mallotus villosus* Müller (1776), chez lequel le mâle mobilise plus de 75 % de ses lipides musculaires comme source d'énergie, alors que chez les femelles, 60 % est utilisé comme énergie et le reste est alloué aux gonades (Henderson *et al.*, 1984).

b) Facteurs environnementaux

Un des facteurs importants dans la composition lipidique des poissons est la variation saisonnière de la température. En effet, au cours des saisons, les variations de températures vont agir sur la disponibilité de nourriture. Ainsi durant l'hiver, l'alimentation se fait rare et les organismes doivent puiser dans leurs réserves, mais au cours du printemps suivant, les individus se nourrissent activement et régénèrent donc leurs réserves énergétiques. C'est le cas du hareng qui présente des pics de triacylglycérols durant la période de nutrition (Henderson & Almatar, 1989). Un autre effet de cette saisonnalité de la température est l'adaptation au froid. On observe une augmentation en acide arachidonique (C20:4 n-6) et docosahexaénoïque (C22:6 n-3) parallèlement à une diminution en acide gras saturés et monoinsaturés et ce de manière à maintenir la fluidité membranaire.

Un autre paramètre influant sur la composition lipidique est la salinité du milieu. En effet, dans diverses expériences menées en laboratoire, l'exposition d'individus euryhalins (le saumon coho *Oncorhynchus kisutch* Walbaum (1792) ou le saumon chinook) à l'eau de mer montre une diminution des teneurs en lipides musculaires et hépatiques. Ce phénomène serait à mettre en relation avec une augmentation de la *triacylglycérol lipase*, une enzyme localisée dans le cytosol et possédant un pH optimal compris entre 6,5 et 7,5 (Sheridan, 1988). Ainsi le rapport phospholipides/triacylglycérols augmente dans les organes de l'osmorégulation (reins, branchies,...).

3.3.3.2 Facteurs nutritionnels conditionnant le stockage des lipides

Très peu d'informations sont disponibles sur la nutrition des poissons en milieu naturel, les seules données disponibles nous proviennent des poissons d'élevage, qui sont généralement plus gras que leurs congénères sauvages (Nettleton & Exler, 1992) étant donné qu'ils se nourrissent essentiellement d'aliments riches en énergie. Une étude réalisée par Grant *et al.* (1998) sur la morue nous montre que lorsque ces poissons sont nourris avec un régime riche en énergie (lipides), ils développent un foie gras. Le poids (sec) du foie représente 27,6 % de la masse corporelle chez les individus d'élevage et 15,9 % chez les poissons sauvages.

3.3.4 Mobilisation des lipides

Au cours du cycle biologique des poissons, il existe de nombreuses périodes au cours desquelles les lipides de réserve sont mobilisés: il s'agit de la période de jeûne durant l'hiver et de la période de maturation des gonades. Chez les poissons, la mobilisation des lipides est sous la dépendance d'une *triacylglycérol lipase*.

3.3.4.1 Le jeûne

L'utilisation des réserves lipidiques au cours des périodes durant lesquelles l'alimentation se fait rare a été démontrée chez de nombreuses espèces parmi lesquelles le tilapia du nil *Tilapia nilotica* L. (Satoh *et al.*, 1984) et la truite arc-en-ciel (Jeziarska *et al.*, 1982). Il est à noter que lorsque les lipides sont consommés, ils sont remplacés par un volume équivalent d'eau dans les tissus de stockage (Love, 1980; Satoh *et al.*, 1984). Takama *et al.* (1985) montrèrent une diminution des lipides hépatiques chez des morues non nourries. De même, chez des perches nourries avec des aliments sans graisses, Xu et Kestemont (2002) observèrent une réduction des dépôts lipidiques dans le foie, les muscles et les viscères, comme nous le montre le tableau 1.8. Les lipides totaux contenus dans ces tissus diminuent de manière significative (74,1 % pour le foie, 66,7 % pour les muscles et 31,7 % pour les viscères), ce qui indique que les graisses alimentaires sont indispensables pour la constitution des réserves lipidiques corporelles.

Tableau 1.8: Contenu en lipides totaux dans différents tissus de la perche avant et après le nourrissage avec un régime sans graisse (Xu & Kestemont, 2002).

Lipides totaux (%)		
	Avant le nourrissage	Après le nourrissage
Foies	34,7	9,0
Viscères	72,9	41,5
Muscles	3,0	1,0

3.3.4.2 *La maturation gonadale*

Chez les salmonidés, le développement des gonades a lieu durant le voyage migratoire, période au cours de laquelle les saumons ne se nourrissent pas. Ce sont donc les triacylglycérols, des tissus adipeux mésentériques dans un premier temps et musculaires dans un second temps, qui vont être mobilisés pour fournir l'énergie. Chez le saumon sockeye, 8,2 % des lipides sont déposés dans les ovaires chez la femelle alors que chez le mâle, seul 0,5 % des lipides sont déposés dans les testicules (Idler & Bitners, 1960). Chez la morue, 20 % des lipides mobilisés depuis les réserves sont déposés au niveau des gonades (Shatunavskiy, 1971). Ici aussi, les lipides utilisés sont remplacés par un volume d'eau équivalent.

4 Utilisation des réserves énergétiques au cours d'un cycle de reproduction

4.1 Introduction

Le développement des gonades requiert de l'énergie en plus de celle requise pour les besoins d'entretien et le catabolisme (Ferroni *et al.*, 1992). Le coût de production des oeufs peut être extrêmement élevé. Ainsi, chez la perche femelle, il peut être supérieur à 86 % de l'énergie stockée au cours d'une année (Craig, 1977). Chez le mâle, ce coût serait inférieur à 10 %. La conséquence de ce coût élevé dans la production de gamètes peut entraîner une réduction de la croissance et de la survie des géniteurs.

4.2 Cycle annuel de reproduction

4.2.1 *Description de cycles saisonniers*

La reproduction constitue une étape cruciale pour assurer la pérennité des espèces. Chez les poissons, elle doit se dérouler au moment où les conditions sont les plus propices à l'expression des comportements reproducteurs et dans des conditions assurant le bon développement des oeufs et des alevins. C'est ainsi que de nombreuses espèces (marines et d'eau douce) des régions tempérées se reproduisent au printemps, et ce dans le but de synchroniser le développement de leurs alevins avec les meilleures conditions environnementales (bloom planctonique, protection contre les prédateurs, température optimale) (Jobling, 1995). Les larves de poissons, vu leur petite taille, ne peuvent se nourrir que de proies de petites tailles (telles que du phytoplancton). Il faut donc que la reproduction ait lieu à un moment de l'année où la taille et l'abondance des proies soient adéquates pour les larves, en l'occurrence le printemps. Une des conséquences de ceci est que la majorité du développement des gonades et notamment la vitellogenèse a lieu durant les mois d'hiver. Or, durant cette période, la nourriture se fait rare (Jobling, 1995). Dans ces conditions, les réserves corporelles sont mobilisées pour assurer d'une part les besoins métaboliques des adultes et d'autre part pour permettre la production des gamètes. On va donc observer d'importantes modifications dans la taille et la composition des divers organes de stockage (Jobling, 1995).

Dans nos contrées, nous pouvons rencontrer 2 grands types de stratégies de reproduction, d'une part les pondeurs uniques qui allouent leurs réserves énergétiques

L'ovogenèse

Chez les téléostéens l'ovogenèse peut-être divisée en 4 étapes : la croissance primaire de l'ovocyte, la vitellogenèse endogène ou prévitellogenèse, la vitellogenèse exogène et la maturation finale (Wallace & Selman, 1981; de Vlaming, 1983; Nagahama, 1983; West 1990).

La croissance primaire de l'ovocyte

Les ovogonies se multiplient par divisions mitotiques pour donner naissance aux ovocytes primaires. Les chromosomes s'arrêtent à la prophase de la première division méiotique. Arrêt qui est maintenu jusqu'à la fin de la vitellogenèse. Le noyau est central, mais sa taille augmente petit à petit et de nombreux nucléoles font leur apparition à sa périphérie. C'est au cours de cette étape qu'apparaissent, dans le cytoplasme, les corps de Balbiani (ou yolk nucleus), dont le rôle semble être de former et de multiplier les organites ovocytaires.

La vitellogenèse endogène

Au cours de cette phase (dépendante d'hormone gonadotrope), on observe l'accumulation de vésicules de vitellus autosynthétiques. Au cours de la croissance ovocyttaire, ces vésicules vont migrer en périphérie de l'ovocyte, elles constitueront les alvéoles corticales qui interviennent dans la réaction corticale lors de la fécondation. Des gouttelettes lipidiques peuvent également s'accumuler dans le cytoplasme ovocyttaire.

C'est également au cours de cette étape que l'on commence à différencier la thèque (formée de plusieurs couches cellulaires) et la granulosa (unistratifiée).

La vitellogenèse exogène

C'est à partir de ce moment que commence à s'accumuler le "vrai" vitellus. Ce vitellus est constitué de deux protéines vitellines, la phosvitine et la lipovitelline qui résultent du clivage de la vitellogénine. La vitellogénine (une lipoglycophosphoprotéine) est synthétisée par le foie suite à une stimulation par le 17β -oestradiol et est libéré dans la circulation sanguine. Elle atteint ainsi l'ovaire et y est incorporée par micropinocytose. Au fur et à mesure que la vitellogenèse progresse, le cytoplasme ovocyttaire est envahi par des globules vitellins qui repoussent les vésicules de vitellus en périphérie de l'ovocyte où elles constitueront les alvéoles corticales.

La maturation finale

Lorsque la vitellogenèse est terminée, le noyau (ou vésicule germinative) migre vers le pôle animal de l'ovocyte. Une fois arrivé dans cette zone il se produit, sous l'action du 17α -hydroxy-20 β -dihydroprogestérone, la GVBD (germinal vesicle breakdown) c'est-à-dire la rupture de la membrane de la vésicule germinative. Son contenu se répand alors dans le cytoplasme. Cet événement marque la reprise de la méiose jusqu'à la prophase de la deuxième division.

Une fois la maturation terminée, l'ovocyte est expulsé soit dans la lumière ovarienne, soit dans la cavité abdominale (comme chez les salmonidés), c'est l'ovulation. Les ovules continuent leur division jusqu'en métaphase II, stade où la fécondation devient possible.

Qu'est-ce que le vitellus?

Le vitellus est un ensemble de protéines vitellines (phosvitine et lipovitelline) qui résulte du clivage de la vitellogénine (une lipoglycophosphoprotéine synthétisée par le foie). Ce vitellus fournira l'énergie et les aliments à l'embryon au cours des stades de développement jusqu'au moment où il sera capable de se nourrir seul (Wallace, 1985).

à une seule ponte, c'est le cas du gardon *Rutilus rutilus* L. et de la perche. D'autres part, les pondeurs multiples qui pondent plusieurs fois en cours de saisons et qui fractionnent donc leurs réserves énergétiques, c'est le cas de l'ablette *Alburnus alburnus* L., du goujon *Gobio gobio* L. ou encore du vairon *Phoxinus phoxinus* L. (Wootton, 1990; Rinchard, 1996). Voir également le point 4.2.3.1.

4.2.2 *Le développement des gonades*

Au cours d'un cycle saisonnier de reproduction, on observe le développement des gonades se caractérisant par une augmentation de l'IGS (indice gonadosomatique). Après la ponte, l'IGS chute et les poissons entrent généralement en période de repos sexuel, c'est au cours de cette phase, qui peut parfois s'étendre sur plusieurs mois (cas du gardon dont le repos sexuel est de 3 à 4 mois (Rinchard, 1996)), que les réserves énergétiques sont reconstituées et que la croissance somatique reprend. Après cette période de repos, le poisson débute une nouvelle gamétogenèse (ovogenèse chez les femelles et spermatogenèse chez les mâles).

4.2.3 *Le statut hépatique au cours d'un cycle de reproduction*

4.2.3.1 *Modification du statut hépatique*

Comme l'on fait remarquer Peute *et al.* (1978), Ng & Idler (1983) et Mommsen & Walsh (1988), d'importantes modifications hépatiques se produisent durant un cycle reproducteur chez les poissons. Les modifications hépatiques sont essentiellement liées au développement de l'ovaire (surtout lors de la vitellogenèse exogène), mais, peuvent néanmoins résulter d'autres facteurs que la reproduction, tels que l'état trophique du milieu ou la saison (Medford & Mackay, 1978; Delahunty & de Vlaming, 1980, Brusle & Gonzalez, 1996). Heidinger & Crawford (1977) ont ainsi démontré que le poids du foie du black-bass à grande bouche *Micropterus salmoides* Lacépède (1802) était corrélé à l'intensité du nourrissage. Par contre, chez le brochet, le poids du foie et son contenu en nutriment sont corrélés à la recrudescence ovarienne plutôt qu'à l'intensité de l'alimentation (Medford & Mackay, 1978).

Différents cas existent:

a) *Les pondeurs uniques*

Chez ces individus qui ne se reproduisent qu'une seule fois au cours de la saison de reproduction, on remarque un faible indice hépatosomatique (IHS) lors de la maturation finale des ovocytes. Ceci correspond à une faible activité vitellogénique hépatique. Ces observations ont été réalisées chez le brochet (Medford & Mackay, 1978; Lenhardt, 1992) et le gardon (Rinchard, 1996). Cet auteur a d'ailleurs pu constater la diminution et/ou la disparition des structures hépatiques impliquées dans la vitellogenèse (RER, appareil de Golgi,...voir aussi le point 4.2.3.3). Des observations similaires ont été réalisées par van Bohemen *et al.* (1981) chez la truite arc-en-ciel. Lors de la période de repos sexuel, le foie entre en phase de récupération et l'on note une augmentation de l'IHS et des teneurs en glycogène et en lipides (Singh & Singh, 1990; Washburn *et al.*, 1992).

La spermatogénèse

Les spermatogonies A (cellules non différenciées) subissent une division, ce qui donne naissance aux spermatogonies B. Celles-ci subissent plusieurs divisions mitotiques, aboutissant à la formation de spermatocytes primaires. Ces spermatocytes subissent alors une méiose, ce qui aboutit à la formation de spermatides, qui vont à leur tour subir une série de transformations cytotogiques (spermiogénèse) menant à la formation des spermatozoïdes (Nagahama, 1983; Billard, 1986; Jobling, 1995). Les spermatozoïdes sont ensuite émis dans le spermiducte, c'est la spermiation.

Les différentes étapes de la spermatogénèse chez les poissons téléostéens (d'après Jobling, 1995).

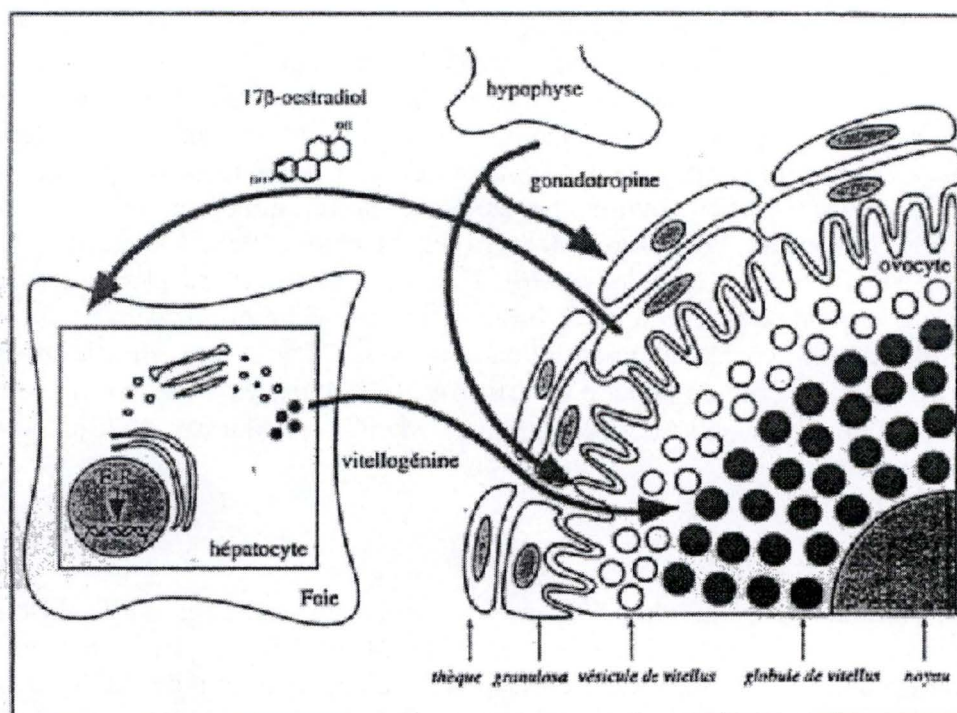
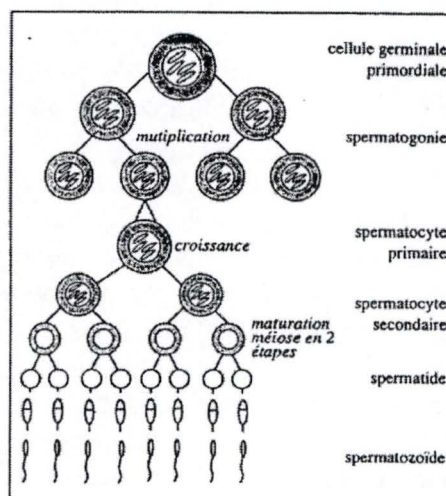


Figure 1.8: Régulation de la vitellogénèse exogène chez les poissons ovipares (d'après Yoshikuni & Nagahama, 1991).

b) Les pondueurs multiples

Chez ces individus qui se reproduisent plus d'une fois par saison, l'activité hépatique se maintient au cours de la période de ponte. C'est le cas du flétan (Haugh & Gulliksen, 1988), mais aussi de l'ablette et du goujon (Rinchart, 1996). En effet, chez ces deux dernières espèces le recrutement ovocytaire et donc l'activité vitellogénique se maintiennent tout au long de la période de ponte. Par ailleurs, chez la brème bordelière *Blicca björkna* L. la chute de l'IHS, des teneurs en glycogène, phospholipides et triglycérides et la disparition du RER nous indique que le recrutement ovocytaire a lieu avant le début de la période de ponte (Rinchart, 1996).

4.2.3.2 La vitellogenèse exogène

La vitellogenèse exogène se caractérise par l'accumulation de globule de vitellus au niveau de l'ovocyte. Ce vitellus résulte du clivage de la vitellogénine (une lipoglycophosphoprotéine). Celle-ci est synthétisée comme suit: sous stimulation de gonadotrope, les cellules folliculaires de l'ovocyte produisent du 17 β -oestradiol. Celui-ci va être acheminé jusqu'au foie via la circulation sanguine. Là, le 17 β -oestradiol stimule la synthèse de vitellogénine. La liaison de l'oestradiol avec son récepteur au niveau de l'hépatocyte va agir sur l'expression du gène de la vitellogénine. Ceci entraîne une augmentation de la synthèse d'ARNm et de vitellogénine (Maître *et al.*, 1985; Mommsen & Walsh, 1988). La vitellogénine est produite dans le réticulum endoplasmique rugueux (RER) et est modifiée au niveau de l'appareil de Golgi, avant d'être excrétée hors de la cellule. L'énergie requise pour ces étapes de biosynthèse est fournie par les mitochondries (Ng & Idler, 1983). La lipoglycophosphoprotéine est alors transportée par le sang jusqu'aux ovaires, où sous l'action de gonadotrope, elle est incorporée par micropinocytose avant d'être clivée en phosvitine et lipovitelline. C'est deux protéines vitellines sont stockées sous forme de globules vitellins (Selman & Wallace, 1981, 1982; Nagahama, 1983; Tyler *et al.*, 1990a, b; Kanungo *et al.*, 1990). La figure 1.8 reprend l'explication ci-dessus. Evidemment, cette activité hépatique intense se marque par une hausse de l'indice hépatosomatique (Delahunty & de Vlaming, 1980; van Bohemen *et al.*, 1981; Eliassen & Vahl, 1982; Haug & Gulliksen, 1988), des teneurs en protéines (Korsgaard, 1990) et une diminution du taux de phospholipides, triglycérides (Haux & Norberg, 1985; Singh & Singh, 1990) et de glycogène (Sand *et al.*, 1980; Pacoli *et al.*, 1991; Barciella *et al.*, 1993).

4.2.3.3 Modification de l'ultrastructure des hépatocytes

Chez le gardon, la vitellogenèse endogène se déroule de juin à août et est caractérisée par un haut indice hépatosomatique. Cependant l'activité vitellogénique semble faible, comme en témoigne le RER peu développé, les petites mitochondries et la forte teneur en glycogène (Rinchart, 1996).

Au cours de la vitellogenèse exogène d'importantes modifications au niveau de la structure des hépatocytes se marquent. Nombreux sont les auteurs qui ont mis ce phénomène en évidence, ainsi van Bohemen *et al.* (1981) ont montré que, chez la truite arc-en-ciel, les changements dans les hépatocytes au cours d'un cycle reproducteur étaient liés aux variations de teneurs en vitellogénine plasmatique.

Ces changements sont: un RER fortement développé, des mitochondries de grandes tailles avec de nombreuses villosités internes et une diminution du glycogène et des gouttelettes lipidiques. Cette diminution des réserves énergétiques du foie, au cours de la vitellogenèse exogène reflète probablement les demandes métaboliques des hépatocytes lors de l'intense période de synthèse de vitellogénine (van Bohemen *et al.*

1981). Les mêmes observations furent réalisées chez le zebrafish *Brachydanio rerio* Hamilton (1822) par Peute *et al.* (1978) et chez le ayu *Plecoglossus altivelis* Temminck & Schlegel (1846) par Aida *et al.* 1973. Bergink *et al.* (1977) ont également constaté une dilatation des saccules de l'appareil de Golgi chez le xénope *Xenopus laevis* L. Il en va de même chez les truites femelles. Cette dilatation des saccules du Golgi s'expliquerait par l'activité plus intense de cet organite durant la synthèse et la sécrétion de vitellogénine (van Bohemen *et al.*, 1981). De même, des soles *Solea solea* L. traitées au 17 β -oestradiol (inducteur de la vitellogenèse) développent un abondant RER ainsi que de nombreuses saccules et vésicules de l'appareil de Golgi (Nunez Rodriguez & Le Menn, 1986). A la fin de cette étape, les mitochondries présentent une structure interne dégénérée.

Le faible IHS associé aux faibles teneurs en glycogène, triglycérides et phospholipides durant la maturation finale, correspond à une activité hépatique réduite comme rapportée chez le brochet (Medford & Mackay, 1978; Lenhardt, 1992). A cette période, la structure des hépatocytes est en régression, le glycogène et les gouttelettes lipidiques ont complètement disparus. Les mêmes observations furent réalisées par van Bohemen *et al.* (1981) chez la truite arc-en-ciel.

Après la ponte, les teneurs plasmatiques en vitellogénine diminuent et le RER est peu développé, les hépatocytes diminuent de taille. Une observation similaire fut réalisée par Bergink *et al.* (1977) sur les foies de xénopes traités à l'oestradiol.

Pour résumer, durant la vitellogenèse exogène, l'indice hépatosomatique (IHS), le niveau de vitellogénine plasmatique et le RER des hépatocytes sont élevés. Ceci résulte du fait que le foie synthétise la vitellogénine et la secrète dans la circulation sanguine. Celle-ci est alors transportée à l'ovaire où elle est incorporée par micropinocytose au sein des ovocytes (diminution des teneurs plasmatiques et augmentation de l'IGS).

4.2.4 Modification de la composition corporelle au cours d'un cycle de reproduction

Chez certains poissons, tels que la plie, le foie est relativement petit et la plupart des réserves sont stockées au niveau des muscles sous forme de protéines et de lipides. La grande majorité des protéines sont utilisées pour la production de vitellus et une faible partie est utilisée pour la production d'énergie métabolique. Environ 55 % des lipides musculaires sont mobilisés durant les mois d'hiver (au cours desquels se déroule la vitellogenèse). Une très faible proportion de ces lipides est déposées dans les gonades, la grande majorité étant utilisée comme source d'énergie métabolique. Evidemment, la mobilisation de ces ressources énergétiques va entraîner de profondes modifications dans la composition des tissus. Ainsi on observe généralement une diminution du contenu protéique et une augmentation du contenu en eau de la chair. Chez certaines espèces, les muscles peuvent devenir "gélatineux", c'est-à-dire qu'ils ne contiennent plus que 2,5 à 3 % de protéines, 0,05% de lipides et plus de 95 % d'eau (Jobling, 1995). Après la ponte, les poissons entrent en période de repos sexuel, période au cours de laquelle ils vont reconstituer leurs réserves énergétiques, et ce de manière à assurer la reproduction lors de la saison suivante (Rinchart, 1996).

Chez le thon rouge du nord, les réserves énergétiques principales se situent au niveau des muscles et des graisses mésentériques périgonadales (voir point 3.3.3). Lors de la maturation gonadale, seules les réserves mésentériques périgonadales sont consommées pour le développement ovarien, les réserves musculaires étant utilisées pour fournir l'énergie nécessaire à la nage jusqu'au site de reproduction (Mourente *et al.*, 2002).

Chez la perche, la zone de stockage énergétique essentielle se situe au niveau des graisses mésentériques périviscérales (voir point 3.3.3) (Xu *et al.*, 2002). Peu de données existent sur la variation de la composition corporelle chez la perche au cours d'un cycle de reproduction. Les seules données trouvées sont présentées dans le tableau 1.9. Celui-ci ne tient malheureusement pas compte des graisses périviscérales. Données qui nous semblent intéressantes, étant donné qu'il s'agit d'un site de stockage majeur.

Tableau 1.9: Contenus en lipides totaux hépatiques et musculaires (g/100g de tissus frais) au cours d'un cycle de reproduction chez la perche. D'après Ågren *et al.*, 1987.

Tissus	Gonades en maturation		Gonades matures		Repos sexuel	
	Muscle	Foie	Muscle	Foie	Muscle	Foie
Lipides totaux	0,8	-	0,6	3,3	0,5	3,4

4.3 Influence de l'alimentation sur la reproduction

4.3.1 Variation de la composition du vitellus

Le contenu en lipide de la vitellogénine de téléostéens est connu chez trois espèces: 21 % du poids frais pour le poisson rouge *Carassius auratus* L. (Hori *et al.*, 1979), entre 18 et 21,5 % pour la truite arc-en-ciel (Campbell & Idler, 1980; Norberg & Haux, 1985) et 19 % pour la truite fario *Salmo trutta fario* L. (Norberg & Haux, 1985). Dans ces trois espèces, la vitellogénine est caractérisée par un haut contenu en phospholipides qui représentent 70 à 90 % (de poids frais) des lipides totaux.

Une étude menée par Silversand & Haux (1995) sur quatre téléostéens (la morue, la truite arc-en-ciel, le turbot et le loup de mer *Anarhichas lupus* L.), montre que la vitellogénine est essentiellement composée par 9 acides gras qui représentent 89 à 91 % des acides gras totaux. Les acides gras prépondérants sont des PUFA (n-3), comme le 20:5 (n-3) et le 22:6 (n-3) (tableau 1.10). Léger *et al.* (1981) Frémont *et al.* (1984), avaient déjà déterminé que la composition en acides gras de la vitellogénine de truite arc-en-ciel était riche en acide gras polyinsaturés à longues chaînes de la série (n-3). La vitellogénine des téléostéens diffère de celle des vertébrés terrestres. En effet, la vitellogénine terrestre contient plus d'acides gras insaturés à courtes chaînes de la famille (n-6) (Chapman, 1980).

Silversand et Haux (1995) ont remarqué des variations de la composition en acides gras entre le foie et la vitellogénine chez ces quatre espèces. Ceci peut-être expliqué par le fait que le foie est le principal organe pour le métabolisme lipidique et que donc le contenu en lipide et la composition en acides gras est susceptible de varier avec l'alimentation et le métabolisme (Sheridan, 1988; Sargent *et al.*, 1989).

La différence dans la composition en acides gras de la vitellogénine et du foie chez le loup de mer, en comparaison à la truite arc-en-ciel, le turbot et la morue peut être attribuée au régime alimentaire. En effet, le loup de mer se nourrit d'invertébrés marins (oursins, crabes, mollusques) qui sont riches en acides gras à 20 carbones tels que le C20:4 (n-6) ou le 20:5 (n-3) (Chapelle, 1978; Sargent & Whittle, 1981; Bell & Sargent, 1985). Les trois autres téléostéens ont des teneurs plus élevées en C22:6 (n-3), acides gras présents dans les poissons. Or la morue, la truite et le turbot se nourrissent de poissons (Silversand et Haux 1995).

Tableau 1.10: Teneur en 3 acides gras dans le foie et la vitellogénine chez 4 espèces de téléostéens. D'après Silversand et Haux (1995).

Acides gras extraits de la vitellogénine	Morue	Truite arc-en-ciel	Turbot	Loup de mer
C20:4 (n-6)	2,9	1,4	4,3	8,9
C20:5 (n-3)	10,0	14,2	6,2	19,4
C22:6 (n-3)	31,4	28,8	27,1	16,5
Acides gras extraits du foie	Morue	Truite arc-en-ciel	Turbot	Loup de mer
C20:4 (n-6)	1,7	3,1	4,1	8,0
C20:5 (n-3)	5,9	13,7	4,6	12,8
C22:6 (n-3)	17,5	23,5	23,8	14,6

4.3.2 Effet de la composition alimentaire sur la qualité des oeufs

La composition des aliments en acides gras influence fortement la qualité des oeufs en affectant leur composition en acides gras (Thrush *et al.*, 1993; Navas *et al.*, 1997). Les PUFA (n-3), essentiellement l'acide docosahexaénoïque (DHA) et l'acide éicosapentaénoïque (EPA) affectent significativement la qualité des oeufs, mais aussi le développement embryonnaire, tel que cela fut démontré par Leray *et al.* (1985) chez la truite. Ainsi, une relation entre la teneur en acides gras des aliments des géniteurs et la qualité des oeufs a été mise en évidence chez la daurade royale par Mourente & Odriozla (1990), Fernández-Palacios *et al.* (1995), il en va de même chez la daurade japonaise (Watanabe *et al.*, 1984; 1991a, b).

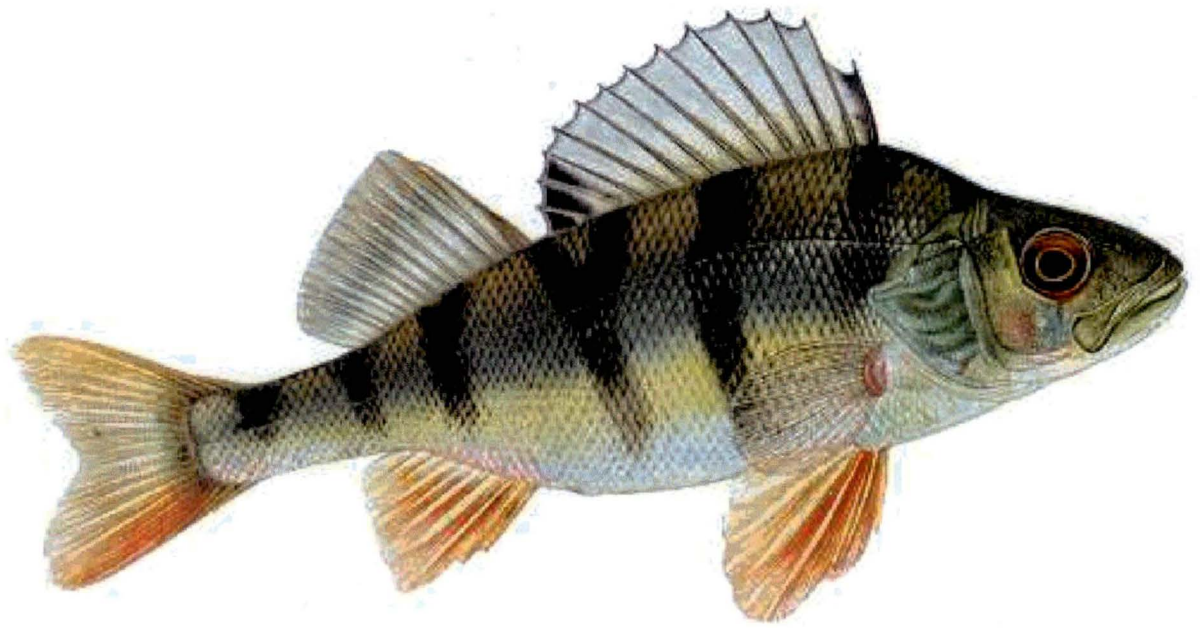
Des études menées sur des géniteurs de bar montrent que s'ils sont nourris avec une ration alimentaire faible, ou avec des aliments à faible teneur lipidique, ils présentent une diminution de la fécondité et une médiocre qualité d'oeufs (Cerdá *et al.*, 1994, 1995). Une amélioration de la qualité des oeufs est associée à un régime enrichi en huile de poisson, contenant donc une teneur élevée en PUFA (n-3) (Navas *et al.*, 1996). Lorsque l'alimentation des géniteurs est réduite ou qu'elle est déficitaire en PUFA (n-3), la qualité des oeufs et la fécondité sont réduites.

Il a été démontré, que pour une espèce donnée, la taille des ovocytes et leurs compositions biochimiques (protéines, lipides et vitamines contenu dans le vitellus) affectent la survie des oeufs, embryons et larves (Bromage, 1995; Somerton *et al.*, 1995; Evans *et al.*, 1996). La qualité des oeufs est largement dépendante du métabolisme des géniteurs durant la période de nutrition précédent la saison de reproduction.

Chez les téléostéens, un déficit en acides gras (n-3) et plus particulièrement en C20:5 (n-3) et C22:6 (n-3) induit un taux de malformations important et une mortalité plus rapide (Moodie *et al.*, 1989; Sargent, 1995). Ceci s'explique par le fait que ces acides gras, outre leur rôle énergétique, jouent un rôle dans la composition des phospholipides membranaires des cellules nerveuses. Il est donc extrêmement important que les oeufs contiennent ces nutriments en quantité adéquate pour assurer la croissance et le développement des larves jusqu'à leur premier nourrissage.

Le rapport DHA/EPA est très important étant donné qu'il rend compte de la proportion des constituants des membranes cellulaires, des tissus nerveux et des précurseurs de prostaglandines (Bell *et al.*, 1986)

Parrish *et al.* (1995) ont montré que chez le flétan, des concentrations élevées en EPA, avaient une importance sur la survie des larves. Cependant chez les poissons d'eau douce qui sont capables de synthétiser l'EPA, les faibles teneurs observées



*Figure 1.9: La perche *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758.*

(notamment chez l'ablette et la brème bordelière) ne doivent pas être considérées comme un indicateur de mauvaise qualité des oeufs (Rinchard, 1996).

4.3.3 Effets de la restriction alimentaire

Le manque de nourriture peut sérieusement affecter la reproduction chez les poissons (atrésie des ovocytes, réduction du nombre d'ovocytes ou diminution du contenu en vitellus). Ainsi, une réduction du taux d'alimentation se marque par l'inhibition de la maturation gonadale chez de nombreuses espèces, parmi lesquelles le poisson rouge (Sasayama & Takahashi, 1972), le bar (Cerdá *et al.*, 1994), le saumon atlantique mâle (Berglund, 1995). Par exemple, chez le bar, des géniteurs nourris pendant 6 mois avec la moitié d'une ration alimentaire normale, présentent lors de la ponte, des oeufs et des larves plus petits que ceux et celles produits par les géniteurs nourris normalement (Cerdá *et al.*, 1994). Chez la truite arc-en-ciel, 20% des ovocytes peuvent entrer en atrésie lorsque la nourriture est insuffisante et si ces conditions se prolongent, 100% des ovocytes entrent alors en atrésie, ce qui compromet fortement la reproduction des individus (Bromage *et al.*, 1992; Kjorsvik *et al.*, 1990).

En plus d'être influencée par la quantité de nourriture, la fécondité est aussi influencée par la qualité de l'alimentation. En effet, si on compare deux populations de gardon (l'une se nourrissant de végétaux et l'autre d'invertébrés), on constate que la population se nourrissant de végétaux a une fécondité bien plus faible (2318 oeufs) que la population se nourrissant d'invertébrés (25560 oeufs) (Titova, 1965 in Mackay & Mann, 1969). Cependant, il est important de remarquer qu'une sous alimentation chez la femelle entraîne une diminution de la fécondité (le nombre d'oeufs) et non une diminution de la taille des oeufs. En effet, dans ces conditions de sous alimentation, le gardon va résorber ses ovocytes vitellogéniques de manière à se procurer des ressources énergétiques au détriment de la fécondité (Rinchard, 1996).

Une preuve supplémentaire de l'influence du taux d'alimentation sur la fécondité nous est donnée par Wootton (1973) qui travaillait sur l'épinoche *Gasterosteus aculeatus* L., puisqu'un taux d'alimentation élevé accroît le nombre et la fréquence de ponte.

5 La perche

5.1 Présentation de la perche

La perche, *Perca fluviatilis* Linnaeus (1758), appartient au super-ordre des téléostéens et à la famille des percidés. La morphologie de ce poisson est très caractéristique. Comme tous les percidés, la perche possède deux nageoires dorsales, la première formée de 13 à 15 rayons épineux et portant une tache noire sur la partie postérieure est souvent plus longue que la seconde. Les nageoires ventrales, anale, caudale sont rouges orangées. L'opercule se termine par une forte épine. Le corps est recouvert d'écailles cténoïdes et est de coloration verte dans la partie dorsale entrecoupée de 5 à 9 stries plus sombres. La partie ventrale est blanchâtre (figure 1.9) (Muus & Dahlström, 1981; Craig, 1987). Sa taille varie de 20 à 40 cm et son poids de 0,2 à rarement plus de 1,5 kg (Muus & Dahlström, 1981).

La perche est extrêmement commune dans les lacs, étangs et cours d'eau à courant assez fort. Il s'agit d'un poisson adapté aux eaux douces tempérées (Muus & Dahlström, 1981).

Le régime alimentaire de cette espèce varie au cours de son cycle de vie, en effet, les premières particules ingérées (diatomées, rotifères, copépodites au stade 1 (Livertoux, 1995), ciliés, algues (Guma'a, 1978)) par les larves ne peuvent être supérieures au diamètre de leur gueule. Au fur et à mesure de la croissance, le régime alimentaire va se modifier, elle va ainsi se nourrir successivement de plancton, benthos, avant de se nourrir d'un mélange plancton-benthos-alevins-petits poissons-jeunes, écrevisses (Thorpe, 1977; Guma'a, 1978; Craig, 1987; Bergman, 1990). Les adultes sont essentiellement piscivores (Muus & Dahlström, 1981).

5.2 Le cycle de reproduction

Le cycle reproducteur des percidés est caractérisé par un développement groupe synchrone des ovaires (Kestemont & Mélard, 2000). Chez la perche, le frai a lieu en avril-mai, lorsque la température de l'eau atteint 12 à 14°C, cependant, la ponte peut débuter en mars lorsque la température est de 8 à 9°C, et elle peut se prolonger jusqu'au mois de juin (par des températures de 19°C) (Poncin, 1995). Avant le frai, les emplacements de pontes sont choisis en général en eau peu profonde avec une végétation riche, des racines ou des petites branches (Muus & Dahlström, 1981). Les ovules ont une taille de 2 à 2,5 mm et sont protégés par une gaine muqueuse. Ils sont déposés en longs rubans de 1 à 2 m de longueur, que les femelles enroulent autour des plantes ou des pierres, ils sont ensuite fécondés par un ou deux mâles (Muus & Dahlström, 1981). Les oeufs sont au nombre de 4000 à 300 000 suivant la taille des femelles. Ils sont tous pondus en même temps et éclosent après 2 à 3 semaines.

5.2.1 Cycle reproducteur chez la femelle

5.2.1.1 *Les indices morphométriques (IGS, IHS et IVS)*

Chez la perche, le développement ovarien peut-être divisé en deux phases:

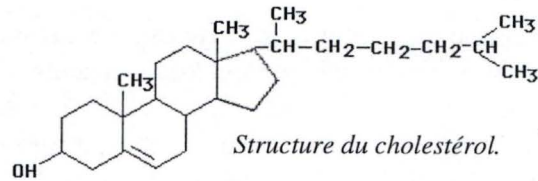
Tout d'abord, après le repos sexuel observé de mai à août (IGS < 1 %), on observe une phase de croissance ovocytaire rapide s'étendant jusqu'en décembre et se caractérisant par une accumulation de vésicules vitellines. Deuxièmement, une phase de croissance lente, qui correspond à la vitellogenèse exogène et qui s'étend jusqu'au début du printemps (l'IGS augmente progressivement jusqu'à la mi-mars, où il atteint 15 %). Cette vitellogenèse est complète à partir du mois de mars, lors de l'augmentation de température. A cette période, l'IGS augmente fortement jusqu'à la ponte (25 %) (Kayes, 1977; Treasurer, 1981; Treasurer & Holliday, 1981; Dabrowski *et al.*, 1996; Sulistyó *et al.*, 1998).

D'après Makarova (1973), l'indice hépatosomatique (IHS) chez la perche augmente à partir de novembre et est maximal au cours du mois de mars. Cela suggère que durant cette période, le foie devient extrêmement actif dans l'élaboration de constituants qui vont se déposer dans les gonades. Sulistyó *et al.* (1998) observèrent le même phénomène. Peu avant la ponte, une diminution de l'IHS est observée. Makarova (1973) et Kirillov & Akhremenko (1982) observèrent que la perche accumulait des graisses mésentériques au cours d'une période de nutrition active (juillet et août). Dès

Les stéroïdes:

Il s'agit d'une autre famille de lipides importante au même titre que les phospholipides et les triglycérides. Les stéroïdes sont caractérisés par un squelette formé de 4 cycles. Ils jouent un rôle important étant donné qu'ils interviennent dans les membranes cellulaires et qu'ils sont précurseurs de nombreuses hormones (oestradiol, testostérone, ...).

Le stéroïde le plus connu est le cholestérol.



Les stéroïdes ovariens:

Les **oestrogènes** (essentiellement le 17 β -oestradiol) sécrétés par les cellules de la granulosa des follicules ovariens, stimulent la synthèse de vitellogénine par le foie. Ces oestrogènes participent également au métabolisme des hydrates de carbone et des lipides. Ils contrôlent probablement la mobilisation des lipides à partir des réserves de graisse.

Le niveau d'oestradiol généralement élevé en fin de vitellogenèse décroît progressivement au cours de la maturation finale et de l'ovulation.

Les **androgènes** comprennent la testostérone, la déhydroépiandrostérone et l'androsténédione. Celles-ci peuvent être synthétisés *in vitro* par les ovaires. La testostérone est considérée comme le précurseur de l'oestradiol.

Les **progestagènes** comprennent la progestérone, la 17 α -hydroxyprogestérone, la 20 α ou 20 β déhydroprogestérone et la 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogestérone. Ces progestagènes sont actifs dans la maturation finale des ovocytes.

que la recrudescence ovarienne reprend, vers la fin de l'été, les dépôts lipidiques péri-viscéraux diminuent.

5.2.1.2 Les stéroïdes sexuels

Durant la phase de repos sexuel, les concentrations en testostérone, 17 β -oestradiol et 17 α , 20 β -P (17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogestérone) et PPP (phosphore protéique plasmatique) sont faibles, mais avec le début de l'ovogenèse en septembre, le taux d'oestradiol (E2) augmente. Ce taux d'oestradiol augmente fortement à partir de novembre, ce qui coïncide avec l'augmentation de l'IHS (Sulistyo *et al.*, 1998). Les oestrogènes jouent en effet un rôle d'inducteur de la vitellogenèse (Wallace & Selman, 1981; Santos *et al.*, 1986). Les teneurs plasmatiques en testostérone (précurseur d'oestradiol), oestradiol et PPP restent élevées jusqu'à la ponte, ce qui nous indique le maintien d'une vitellogenèse active jusqu'à ce moment. Juste avant la ponte, le taux de 17 α , 20 β -P augmente, ce qui induit la GVBD et la maturation finale de l'ovocyte (Barry *et al.*, 1995). Cependant, contrairement à d'autres espèces, les percidés n'ont besoin que de faibles concentrations en 17, 20 β -P pour atteindre la maturation finale.

5.2.2 Cycle reproducteur chez le mâle

5.2.2.1 Les indices morphométriques (IGS, IHS et IVS)

Juste après la période de frai, l'IGS diminue fortement et reste bas durant tout l'été. Au mois de juin, les testicules ne présentent que de spermatogonies (Sulistyo *et al.*, 2000). La recrudescence testiculaire semble débiter fin août et elle progresse rapidement, coïncident avec une chute des températures. L'augmentation de l'IGS serait liée à l'apparition de spermatocytes dans les testicules. Pour certains auteurs, tels que Jamet & Desmolles (1994), l'IGS maximal se rencontre en mars, alors que pour Treasurer & Holliday (1981) et Sulistyo *et al.* (2000), il se rencontre en septembre-octobre. A ce moment, les testicules présentent des spermatocytes, des spermatides et des spermatozoïdes. Au cours de l'hiver, l'IGS reste stable, aux alentours des 5 % (Sulistyo *et al.*, 2000). De janvier à la période de frai (mi-avril), les mâles sont spermiantes (Sulistyo *et al.*, 2000).

Juste après la période de frai, l'IHS est bas. Il augmente graduellement de septembre à février, moment où il atteint sa valeur maximale, 1,9 % (Sulistyo *et al.*, 2000). Il se maintient à cette valeur jusqu'à la ponte. Peu avant celle-ci, il diminue (Sulistyo *et al.*, 2000). Pour Makarova (1973), l'IHS élevé rencontré en juin chez des perches du réservoir d'Ivan Kovo (Russie), s'explique par le début de la période de nutrition active. Les plus hautes valeurs d'indice viscérosomatique (IVS) sont rencontrées en été, après la période de frai. Ceci suggère que les géniteurs de perches développent des stocks énergétiques péri-viscéraux au cours de la période de nourrissage estivale. Ces réserves seront utilisées ultérieurement lors de la recrudescence gonadale (Sulistyo *et al.*, 2000).

5.2.2.2 Les stéroïdes sexuels

D'avril à novembre, les teneurs en 11-kétotestostérone plasmatique sont faibles. Par ailleurs, la teneur en testostérone plasmatique augmente fortement en décembre, pour atteindre un maximum en janvier. Elle diminue en février et s'élève ensuite à nouveau jusqu'à la période de frai en avril. Cette seconde augmentation pourrait coïncider avec le démarrage d'un nouveau cycle de spermatogenèse. La 11-kétotestostérone augmente d'octobre à février, puis diminue de février à la période de frai en avril, tout

en restant supérieure aux valeurs mesurées en automne (Sulistyo *et al.*, 2000). La concentration en testostérone plasmatique atteint donc sa valeur maximale 1 mois avant la 11-kétotestostérone, ce qui suggère des rôles différents de ces deux stéroïdes. Pour Kime & Manning (1982), la testostérone serait impliquée dans la spermiogenèse alors que la 11-kétotestostérone serait impliquée dans l'initiation de la spermiation.

6 Conclusion

Cette synthèse bibliographique nous a permis de mettre en évidence les nombreuses différences qui existent entre les espèces de poissons. Non seulement au niveau de leurs besoins en acides gras essentiels (espèces marines par rapport aux espèces d'eau douce), de leurs sites de stockages énergétiques (foies, muscles), mais également au niveau de l'utilisation des réserves énergétiques au cours d'un cycle saisonnier de reproduction (pondeurs uniques et multiples).

Deuxième partie:

Matériel et méthodes

1 L'espèce cible et sa capture

1.1 La perche

L'espèce étudiée, est la perche commune *Perca fluviatilis* Linnaeus (1758). Une description de ce téléostéen a été réalisée dans la synthèse bibliographique, au point 5. Pour notre étude, nous avons prélevé des individus, se situant dans une gamme de poids variant de 150 g à 500 g, cela nous évite d'utiliser de jeunes poissons immatures, ainsi que de vieux individus dont le métabolisme lipidique pourrait être modifié. D'autre part, cette gamme de poids correspond généralement à la gamme de poids commercialisée en Europe.

1.2 Les sites et dates de captures

Les prélèvements de poissons se sont déroulés en Meuse (bief de Rivière, bief et noue de Tailfer) au cours des mois d'août et octobre de l'année 2001, ainsi qu'au cours des mois de février, mars et avril de l'année 2002. Comme nous l'avons mentionné précédemment le but de notre étude est d'établir un référentiel naturel. Nous devons donc obtenir des poissons ayant subi le moins possible l'impact des activités humaines. Le choix des sites de pêches s'est donc tout naturellement porté sur des zones situées en amont de grosses agglomérations telles que Namur (confluence avec la Sambre), Huy (centrale nucléaire) ou Liège (bassin industriel important). Nous nous sommes fixé un quota de 5 femelles et de 5 mâles par mois, cependant à certaines périodes, celui-ci ne put être respecté suite à de mauvaises conditions climatiques engendrant des difficultés de capture, ou des différences dans le sex-ratio des poissons capturés.

1.3 Les méthodes de captures

Trois techniques d'échantillonnage ont été utilisées pour capturer les poissons: la pêche électrique, la pêche au filet maillant et le piégeage de poissons dans une nasse.

1.3.1 La pêche électrique

Cette technique consiste à créer un champ électrique dans le milieu environnant. Ce champ électrique est limité par une cathode qui est traînée à l'arrière de l'embarcation, et par une anode (manche isolant terminé par un grillage circulaire) qui est manipulée par un opérateur. Lorsque l'anode est plongée dans l'eau, les poissons, sensibles au stimulus électrique, nagent vers celle-ci et sont alors capturés à l'aide d'une épuisette. Pour réaliser ce type de pêche, nous avons utilisé un groupe électrogène de marque Deka, celui-ci produit un courant alternatif de +/- 300 volts et d'intensité de 2 à 6 ampères. En Meuse, cette technique de pêche fut réalisée avec un canot pneumatique de marque "Valiant DR-400". Un minimum de 3 personnes est nécessaire pour mener à bien cet échantillonnage, une manipulant l'anode, une seconde récoltant les poissons à l'aide d'une épuisette et une troisième dirigeant l'embarcation.

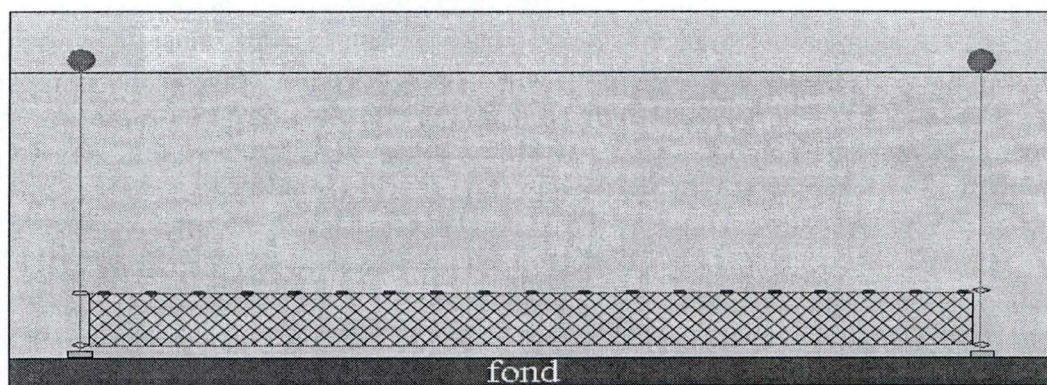
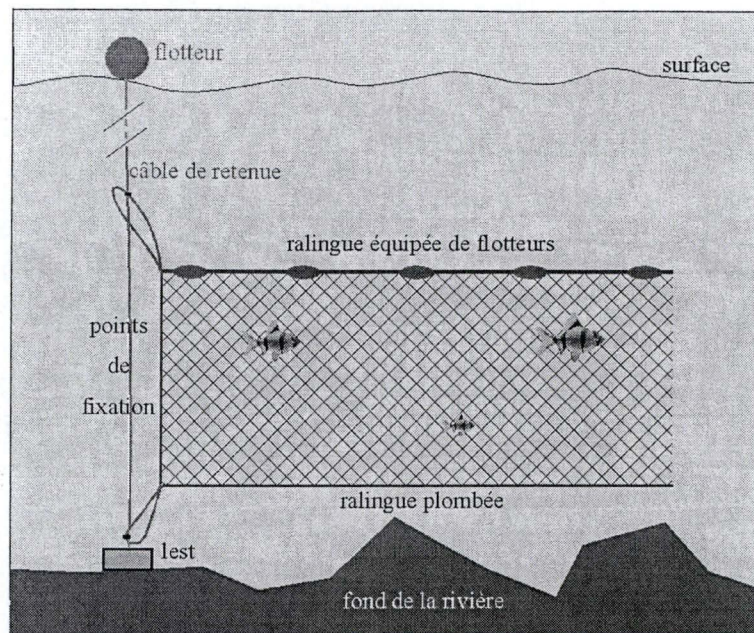


Figure 2.1: Filet maillant horizontal.

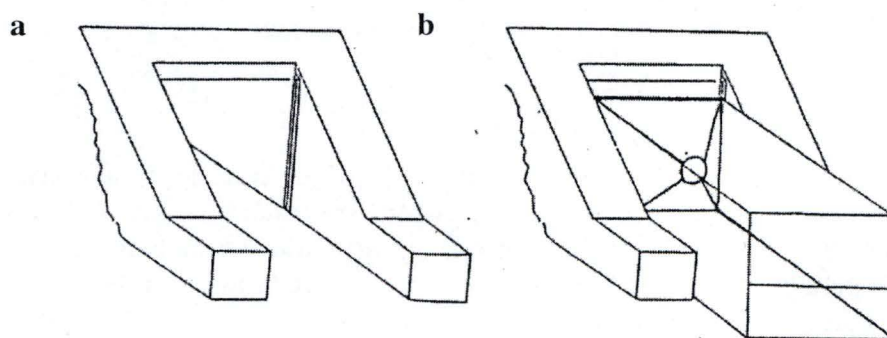


Figure 2.2: (a) Vue montrant l'entrée du tunnel de la noue de Tailfer vers la Meuse. (b) Vue montrant la disposition de la nasse dans le tunnel de communication entre la noue de Tailfer et la Meuse.

1.3.2 *La pêche au filet maillant*

Etant donné que la pêche électrique ne se pratique qu'en eau peu profonde et ne permet donc que de capturer des poissons le long des berges, des pêches aux filets maillant horizontaux ont été réalisées. Ces filets en nylon, dont le diamètre du fil est de 0,2 à 0,3 mm, ont une longueur de 50 mètres, une hauteur de 1,50 mètres et des mailles allant de 10 à 80 mm. Pour notre étude, des filets à mailles de 30, 40 et 50 mm ont été utilisés, de manière à capturer des perches adultes. Ces filets sont disposés dans le sens du courant et sont lestés de manière à reposer sur le fond (figure 2.1). Après un temps de pose d'une nuit, les filets sont relevés le matin et les poissons qui y sont piégés, sont démaillés et stockés vivants jusqu'à leur arrivée au laboratoire.

1.3.3 *Le piégeage dans la nasse*

Une nasse a été placée fin mars à la sortie du tuyau de communication entre la noue de Tailfer et la Meuse, dans le sens Meuse-noue (figure 2.2). C'est en effet à ce moment, que débute la période de reproduction. Les poissons entrent dans la noue pour y trouver des conditions favorables (eau calme) au frai. La nasse a une forme parallélépipédique et est constituée d'une armature métallique, recouverte de treillis sur les côtés. L'une des petites faces est munie d'un cône d'entrée, qui guide les poissons vers l'intérieur de la nasse, les empêchant d'en sortir. L'autre petite face est munie d'une porte permettant le relevé de la nasse. Le relevé de la nasse fut effectué tous les deux jours durant le mois d'avril 2002. Il faut cependant noter que peu de poissons ont été prélevés de cette manière, car cette année, quelques jours ensoleillés ont entraîné une migration précoce des poissons vers la noue, avant la pose de la nasse.

Après capture, les perches sont ramenées au laboratoire et tuées par un coup sec sur la tête avant d'être disséquées (figures 2.3 et 2.4). Diverses mesures (poids des graisses périscérales, gonades et foie) et prélèvements (foie, gonades, filets) sont ensuite effectués. Les échantillons utilisés pour les dosages lipidiques sont stockés à -20°C jusqu'au moment de l'analyse.

2 Etude des paramètres morphologiques et du facteur de condition

2.1 Mesure de différents paramètres morphologiques

2.1.1 Longueur totale

Chaque poisson est mesuré au millimètre près à l'aide d'une règle à butée. La longueur totale est comprise entre l'extrémité de la bouche et l'extrémité de la nageoire caudale.

2.1.2 Poids total

Les poissons sont pesés au gramme près à l'aide d'une balance Philips de 0 à 5000 g.

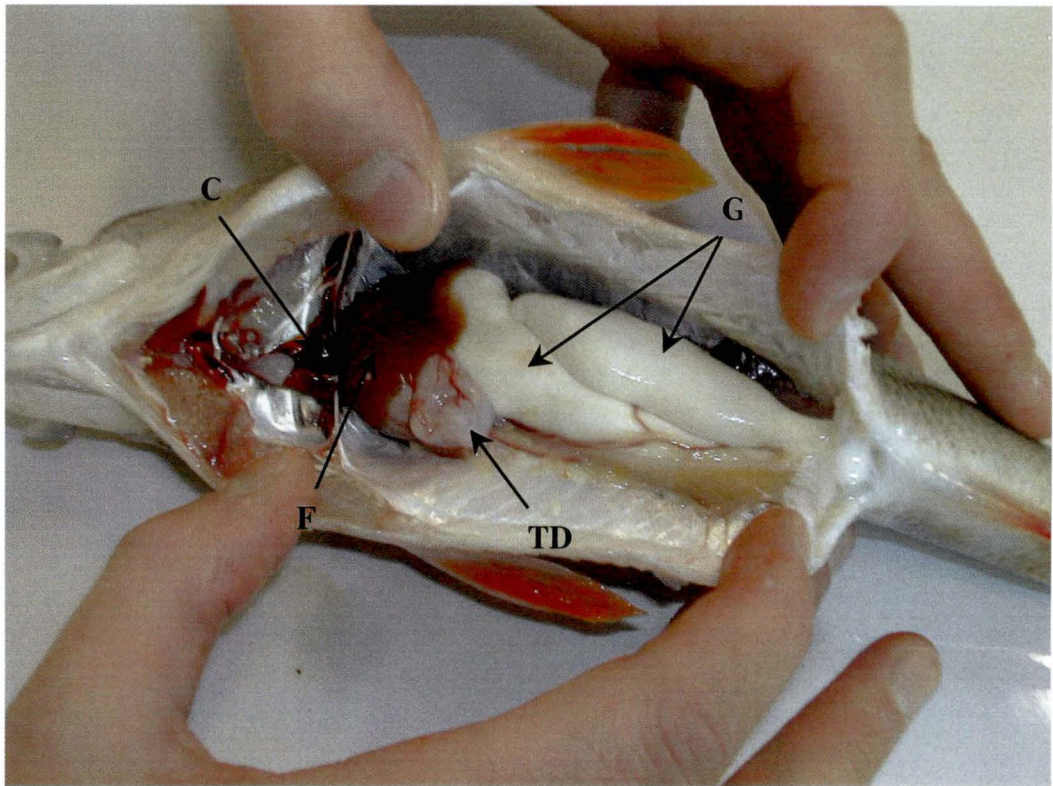


Figure 2.3: Dissection de la perche: (C) coeur, (F) foie, (G) gonades mâles (deux testicules), (TD) tube digestif. Perche mâle mature, lors de la spermiation.

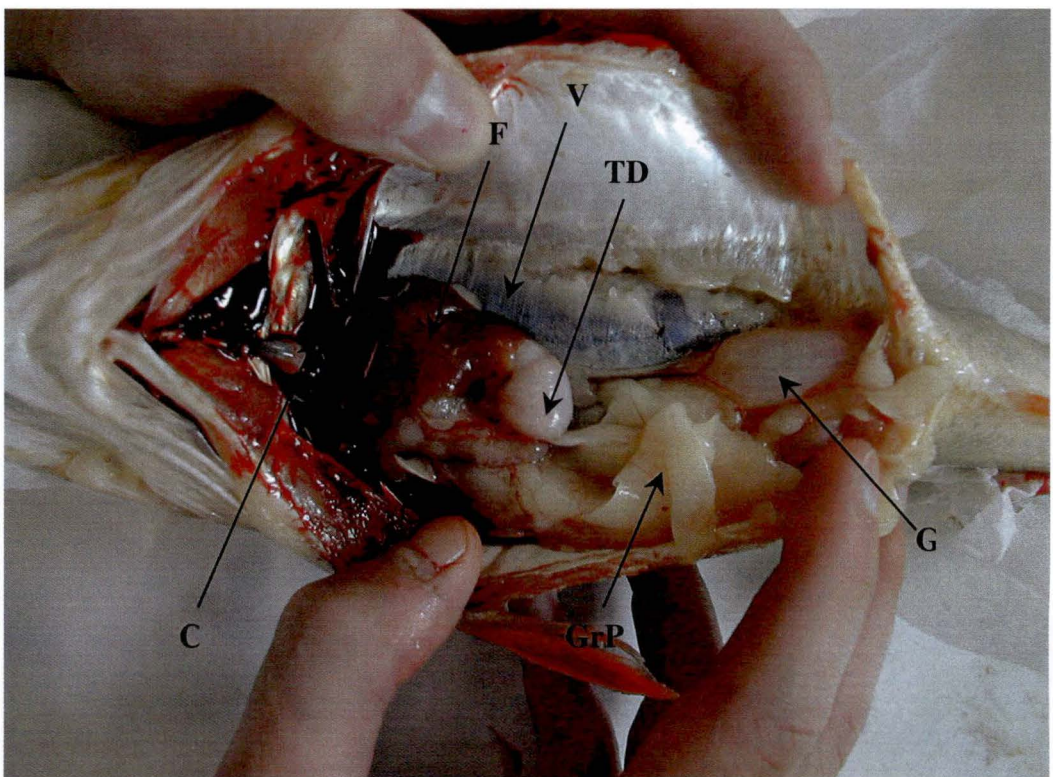


Figure 2.4: Dissection de la perche: (C) coeur, (F) foie, (G) gonade femelle (un ovaire), (TD) tube digestif, (GrP) graisses périviscérales, (V) vessie natatoire. Perche femelle en repos sexuel deux mois après la ponte.

2.1.3 Poids du foie

Après dissection, le foie est prélevé et pesé au millième de gramme près, au moyen d'une balance Sartorius.

2.1.4 Poids des gonades

Après dissection, les gonades sont prélevées et pesées au millième de gramme près à l'aide d'une balance Sartorius.

2.1.5 Poids des graisses périviscérales

Les graisses périviscérales sont les réserves de lipides que la perche stocke autour des viscères. Ces graisses sont prélevées et pesées au millième de gramme à l'aide d'une balance Sartorius.

2.2 Le facteur de condition

Le facteur de condition (K) a été décrit par Le Cren (1951). Il permet de déterminer l'embonpoint des poissons. Ce facteur s'obtient par la formule suivante:

$$K = 100 \times P/Lt^3$$

Où P correspond au poids total du poisson (en g) et Lt est la longueur totale (en cm).

3 Etude du statut hépatique

3.1 L'indice hépatosomatique

L'indice hépatosomatique ou IHS a été calculé pour chaque individu pêché, il correspond au rapport entre le poids du foie (F en g) et le poids total du poisson (P en g).

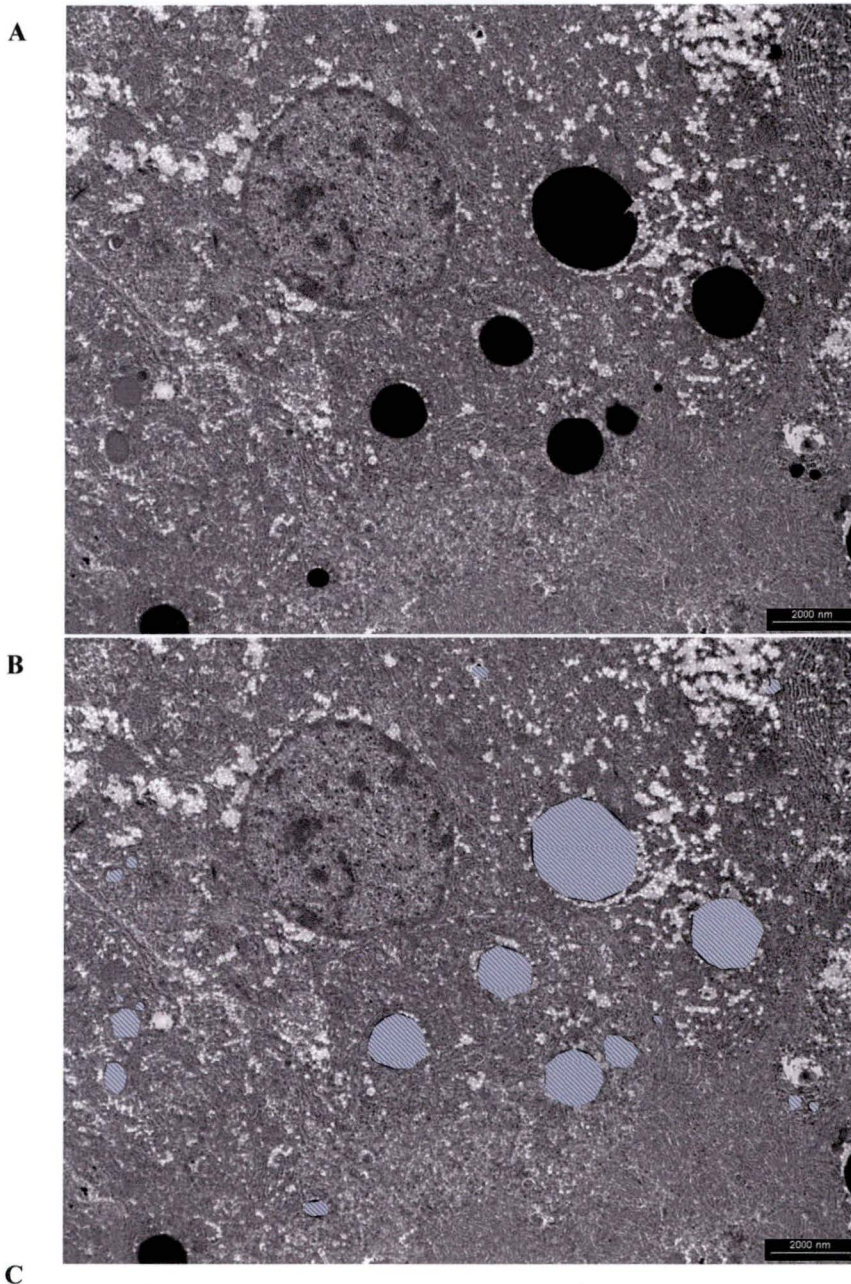
$$IHS (\%) = (F \times 100)/P$$

3.2 Etude de l'ultrastructure hépatique

Lors du prélèvement du foie, un fragment de celui-ci est utilisé pour mettre en évidence les variations hépatiques au niveau cytotologique et ce tout au long du cycle de reproduction.

3.2.1 Préparation des coupes

Des cubes de 1 mm³ sont coupés et aspergés de glutaraldéhyde 2,5 % de manière à éviter la dégénérescence des tissus au contact de l'air. Après avoir été fixés dans du tampon cacodylate et une solution d'osmium, ces échantillons sont déshydratés dans différents bains d'alcool et passent ensuite dans l'oxyde de propylène, avant d'être



C

N° de particule	Aire	Diamètre maximal	Diamètre minimal	Diamètre moyen
	nm ²	Nm	nm	nm
1	2580247,24	1977,85	1755,07	1868,06
2	99567,99	409,55	315,93	384,79
3	49175,39	296,04	243,72	279,60
4	109549,13	454,89	419,24	443,09
5	1410505,94	1494,35	1272,26	1401,96
6	1665877,14	1525,95	1442,89	1496,33
7	559430,90	986,92	794,66	901,13
8	37733,59	312,05	188,58	263,94
9	1573855,87	1533,91	1362,35	1472,42
10	211794,99	649,34	459,15	595,53
11	338871,98	859,42	544,98	744,60
12	421642,44	843,12	700,90	789,89
13	39681,13	294,39	189,81	269,31
14	72058,98	393,79	281,28	347,36
15	102732,74	497,82	350,63	433,82
16	25561,46	234,04	177,90	216,12
17	110522,90	483,93	350,63	442,47
18	5377888,64	2927,48	2427,80	2713,45

Figure 2.5 : Exemple d'utilisation du logiciel analysis. A) Photo non travaillée. B) Photo retravaillée avec le logiciel (gouttelettes lipidiques en gris). C) Tableau de résultats donné par le logiciel après traitement des photos.

inclus dans l'épon. Après polymérisation de cette résine, les fragments hépatiques sont coupés à 2 μm (coupes semi-fines) et ce de manière à visualiser les zones intéressantes. Une fois cette étape effectuée, les blocs sont coupés à 500 Å (coupes ultra-fines). Celles-ci sont enfin colorées à l'acétate d'uranyl avant d'être observées au microscope électronique (voir annexe 3).

3.2.2 Observations microscopiques

Cette partie de l'étude a été réalisée sur 3 femelles par périodes. Sur chacune de celles-ci, nous avons réalisés vingt photographies, qui ont alors été analysées. L'observation de l'ultrastructure hépatique a été réalisée à l'aide d'un microscope électronique à transmission Philips "Tecnai 10". Les structures témoignant d'une intense activité hépatique sont le réticulum endoplasmique rugueux (RER) et les mitochondries. Ces structures, de même que les zones de stockages énergétiques (inclusions de lipides et glycogène) seront prises en compte (quantification et mesure de la surface) lors de l'analyse des photographies qui se réalise à l'aide du logiciel informatique AnalySIS 3.0 (Soft Imagin System). Ce programme nous permet de repérer automatiquement les gouttelettes lipidiques, le glycogène et les mitochondries simplement en fixant des niveaux de gris. Cependant une vérification manuelle de chaque photographie s'impose, étant donné que de nombreux organites ont des seuils de gris équivalents (figure 2.5). La détermination de la superficie du RER a été réalisée sur 6 images par femelle, en y plaçant une grille (20 μm x 16 μm) formée de 320 carrés de 1 μm de côté chacun. Nous recensons le nombre de carrés contenant le RER, de manière à obtenir une estimation la plus objective possible, de la surface occupée par cet organite au sein des hépatocytes.

Les micrographies ont une superficie de 320 μm^2 . C'est à partir de cette valeur que nous avons déterminé la surface (en %) occupée par certains organites.

Les préparations des coupes et photographies ont été réalisées en collaboration avec l'Unité Interfacultaire de Microscopie Electronique (Prof. Y. Poumay, FUNDP).

3.2.3 Analyse des résultats

Après avoir vérifié l'homogénéité des variances par le test de Hartley (effectifs égaux) (Dagnelie, 1975), nous avons réalisé une analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) et un test de Scheffé, ou un test LSD (Least Significant Difference, test de la plus petite différence significative), si le test de Scheffé ne donnait pas de résultats, pour mettre en évidence des différences significatives ($P < 0,05$) entre les différentes périodes.

3.3 Contenu lipidique, quantification et détermination des acides gras

3.3.1 Extraction des lipides totaux

Les lipides hépatiques ont été extraits avec un mélange chloroforme/méthanol/eau (8:4:3, vol/vol/vol) suivant la méthode de Folch *et al.* (1957), (Annexe 4). Les

morceaux de foie dont le poids était compris entre 0,2 et 3,6 g ont été broyés à 13000 rpm avec un Ultra-Turax X 1030 D.

3.3.2 Détermination et quantification des acides gras

Dans la mesure du possible, cette étape a été effectuée sur 3 échantillons de lipides totaux par sexe. Les acides gras des lipides totaux sont préparés en esters méthyliques d'acides gras (FAME ou Fatty Acid Methyl Esters) avec du BF₃-MeOH, cette étape se réalise suivant la méthode de Tocher & Harvie (1988) (annexe 5). Les acides gras sont alors séparés et quantifiés par chromatographie en phase gazeuse (GC Trace, 2000; ThermoQuest, Carlo Erba, Italie) en utilisant une colonne capillaire de 30 m x 0,32 mm (FAME-WaxTM; Restek Corporation, Bellefonte, PA). L'hélium est utilisé comme gaz porteur et les programmations de température sont de 66 à 190°C par 40°C/min et ensuite jusqu'à 230°C par 2°C/min. Les méthyls esters individuels sont identifiés par comparaison à un standard d'huile de poisson (Ackman, 1980) et sont quantifiés à l'aide d'un ordinateur intégré Chrom-Card for Trace (ThermoQuest).

3.3.3 Analyse des résultats

Pour les lipides totaux, un test de comparaison des moyennes à variances égales a été réalisé de manière à mettre en évidence une différence significative ($P < 0,05$) entre mâles et femelles. Ensuite, après avoir vérifié l'homogénéité des variances à l'aide du test de Bartlett (effectifs inégaux) (Dagnelie, 1975), nous avons effectué une analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1), suivie d'un test de Scheffé ou d'un test LSD, pour mettre en évidence les différences significatives ($P < 0,05$) entre périodes.

Pour les acides gras, après avoir vérifié l'homogénéité des variances à l'aide du test de Bartlett (effectifs inégaux), nous avons réalisé une analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA 2) ainsi qu'un test de Scheffé ou un test LSD pour mettre en évidence des différences significatives ($P < 0,05$).

4 Etude du stade de développement des gonades

4.1 L'indice gonadosomatique

L'indice gonadosomatique ou IGS a été calculé pour chaque poisson, il correspond au rapport entre le poids des gonades (G en g) et le poids total du poisson (P en g).

$$\text{IGS (\%)} = (G \times 100)/P$$

4.2 Etude histologique des gonades

4.2.1 Préparation des coupes histologiques

Après avoir prélevé les gonades, un fragment de celles-ci est placé dans une solution de Bouin (75% d'acide picrique, 20% de formol et 5% d'acide acétique glacial) durant un minimum de 24 heures. Ces fragments sont ensuite rincés dans 2 à 3 bains de

méthanol 70 %. Le méthanol enlève les cristaux d'acide picrique qui se sont déposés dans les gonades.

L'étape suivante consiste en une déshydratation, celle-ci se réalise automatiquement à l'aide d'un appareillage "Elliot Shandon" qui fait passer les échantillons dans 4 bains de méthanol absolu, suivi de 4 bains de toluol et enfin de 4 bains de paraffine. Dès que cette étape est terminée, les gonades sont enrobées dans de la paraffine à 58°C. Les blocs de paraffine contenant les gonades sont ensuite coupés à l'aide d'un microtome Leica RM 2145. Les gonades femelles sont coupées à 4 µm, tandis que les gonades mâles sont coupées à 3 µm. Les coupes sont alors étalées sur lame "Super Frost", avant d'être colorées avec un trichrome à froid: hémalun-phloxine-vert lumière pour les gonades femelles (ovaires) et avec un trichrome à chaud: hématoxiline de Regaud à 57°C- solution de rouge- vert lumière pour les gonades mâles (testicules). Les protocoles sont présentés en annexes 6 et 7.

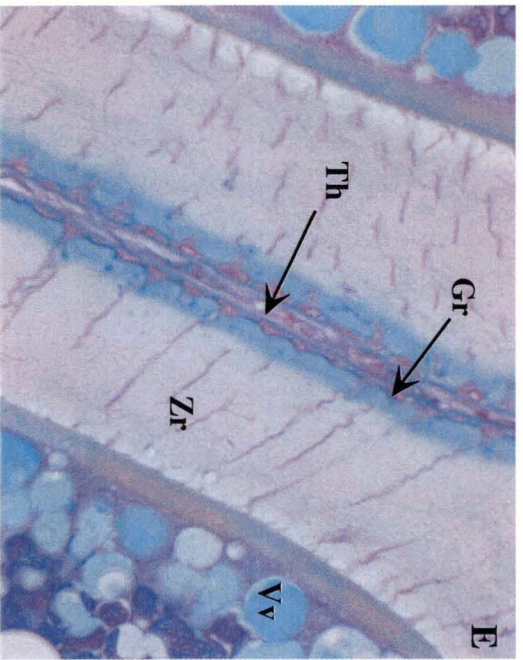
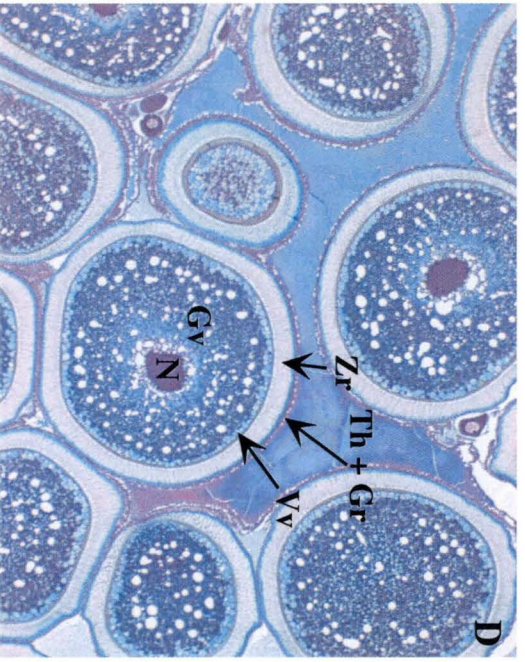
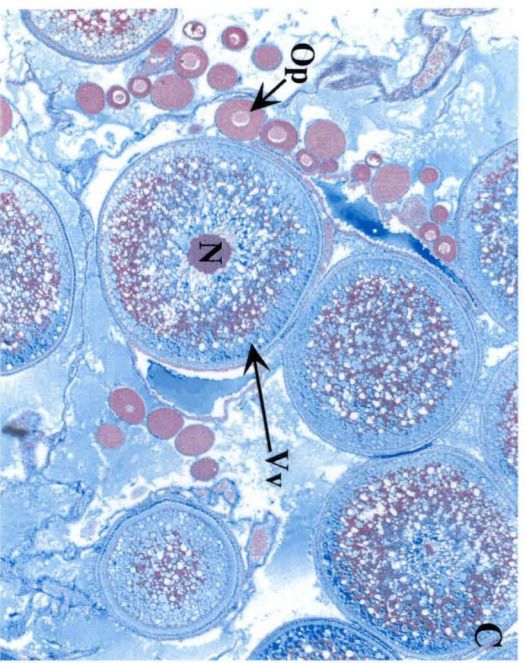
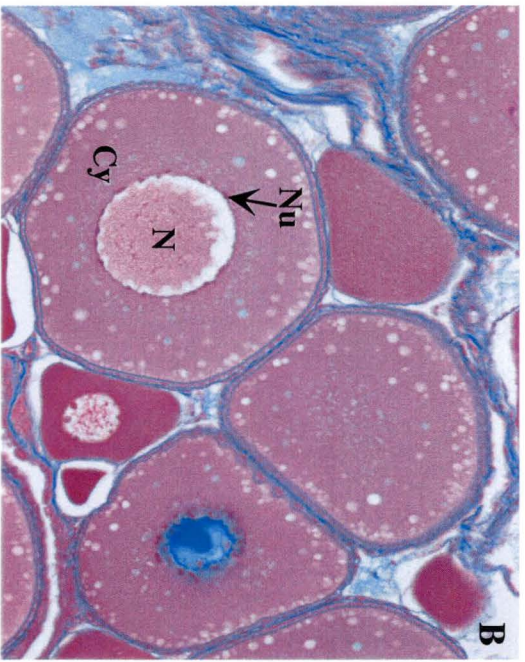
Les coupes et colorations ont été réalisées en collaboration avec le département d'histologie-embryologie (Prof. Y. Poumay, FUNDP).

4.2.2 Détermination du stade de maturité

Pour déterminer le stade de maturité de nos femelles, nous nous sommes basés sur une échelle développée par Rinchar et Kestemont (1996) (tableau 2.1 et figure 2.6). Cette échelle divise le développement ovocytaire en 6 stades.

Tableau 2.1: Les caractéristiques microscopiques de l'ovaire pour la détermination des stades de maturité chez la perche. Traduit, d'après Rinchar & Kestemont (1996).

Stade de développement ovarien	Stades ovocytaires présents dans l'ovaire	Description des ovocytes les plus avancés
(1) Prévitellogénique	Ovocytes prévitellogéniques (ou protoplasmiques).	Ovocytes avec vacuole libre dans le cytoplasme. Gros noyau central avec de nombreux nucléoles à sa périphérie.
(2) Début de la vitellogenèse endogène	Ovocytes prévitellogéniques et ovocytes en vitellogenèse endogène.	Apparition des vésicules vitellines formant 2 ou 3 anneaux dans la périphérie du cytoplasme (début de la vitellogenèse endogène).
(3) Fin de la vitellogenèse endogène	Ovocytes prévitellogéniques et ovocytes ayant achevé leur vitellogenèse endogène.	Ovocytes remplis de vésicules vitellines. Enveloppes folliculaires et cellulaires différenciées (fin de la vitellogenèse endogène).
(4) Vitellogenèse exogène	Ovocytes prévitellogéniques et ovocytes aux différents stades de la vitellogenèse exogène.	Ovocytes accumulant des globules vitellins et des vésicules vitellines en périphérie du cytoplasme.
(5) Maturation finale	Ovocytes prévitellogéniques et ovocytes en maturation finale.	Apparition du micropyle par invagination des cellules folliculaires et migration de la vésicule germinale vers celui-ci.
(6) Post-ponte	Ovocytes prévitellogéniques et follicules pré- et post-ovulatoires.	Follicules pré- et post-ovulatoires hypertrophiés, dégénérescence de la substance vitelline.



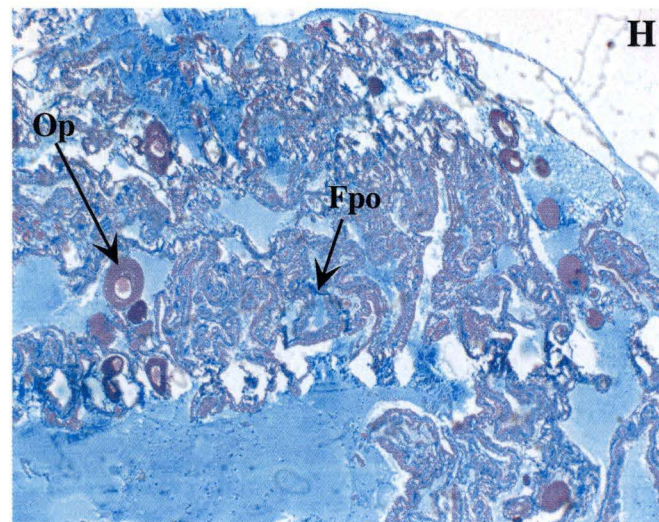
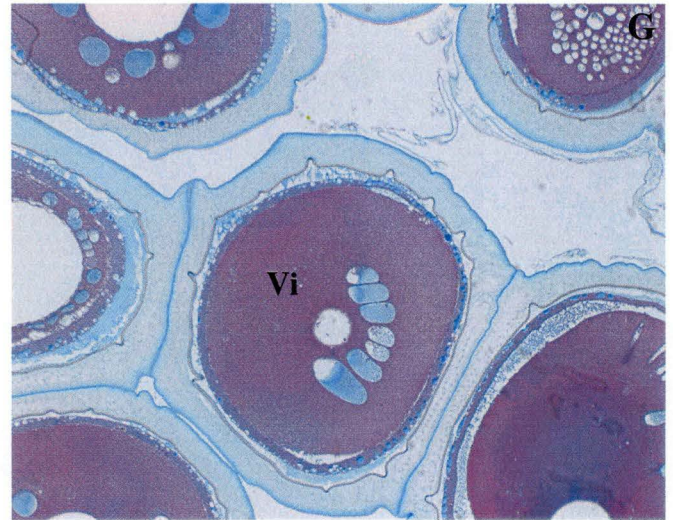


Figure 2.6: présentation des différents stades ovocytaires.

- A: ovocyte protoplasmique du mois d'août (grossissement 200 x).
 B: ovaire de la mi-août, contenant des ovocytes en vitellogenèse endogène et des ovocytes protoplasmiques (grossissement 200 x).
 C: ovocytes en vitellogenèse exogène au mois d'octobre (grossissement 40 x).
 D: ovocytes en vitellogenèse exogène au mois de février (grossissement 40 x).
 E: zoom sur la paroi d'un follicule ovarien du mois de février (grossissement 400 x).
 F: ovocytes en vitellogenèse exogène au mois de mars (grossissement 40 x).
 G: ovule du mois d'avril (grossissement 40 x).
 H: follicules atrétiques post-ovulatoires et ovocytes protoplasmiques dans un ovaire du mois d'avril (grossissement 40 x).

N = noyau, Nu = nucléole, Cy = cytoplasme, Vv = vésicule de vitellus,
 Gv = globule de vitellus, Gr = granulosa, Th = thèque, Zr = zona radiata,
 Op = ovocyte protoplasmique, Vi = vitellus, Fpo = follicule atrétique post-ovulatoire.

Les différentes caractéristiques de la spermatogenèse sont présentées dans le tableau 2.2 (Kestemont, 1987) et la figure 2.7.

Tableau 2.2: Les caractéristiques microscopiques de la spermatogenèse. D'après Kestemont (1989).

Type cellulaire	Caractéristiques microscopiques
Spermatogonies A	Grandes cellules possédant un gros noyau, dont le diamètre est de l'ordre de 9 à 13 μm (chez le goujon).
Spermatogonies B	Cellules possédant un noyau, dont le diamètre est de l'ordre de 7 à 9 μm (chez le goujon).
Spermatocytes	Cellules dont le noyau est de l'ordre de 5 à 7 μm (chez le goujon). On peut distinguer le stade "zygotène" (accouplement longitudinal des chromosomes homologues, avec image en parapluie) et "pachytène" (chromatine condensée en paquet).
Spermatides	Cellules possédant un noyau de petite taille (3 μm).
Spermatozoïdes	Cellules possédant un flagelle.

Pour rappel, les différentes étapes de l'ovogenèse et de la spermatogenèse ont été présentées dans la section 1 de ce manuscrit.

4.3 Contenu lipidique, quantification et détermination des acides gras

4.3.1 Extraction des lipides totaux

Les lipides des gonades ont été extraits avec un mélange chloroforme/méthanol/eau (8:4:3, vol/vol/vol) suivant la méthode de Folch *et al.* (1957). Les morceaux de gonades mâles dont la masse était comprise entre 2 et 6 g ont été broyés à 13000 rpm à l'aide d'un Ultra-Turax X 1030D. Les gonades femelles, dont la masse était souvent de l'ordre de 20 g à quelques exceptions près (6 g, 51 g), ont été broyées à l'aide d'un mixer Waring 38BL40. La méthode suivie est présentée à l'annexe 4.

4.3.2 Détermination et quantification des acides gras

La préparation des FAME pour la chromatographie en phase gazeuse et le dosage des acides gras ont été présentés au point 3.3.2.

4.3.3 Analyse des résultats

Pour les lipides totaux, un test de comparaison des moyennes à variances égales a été réalisé de manière à mettre en évidence une différence significative ($P < 0,05$) entre mâles et femelles. Ensuite, nous avons effectué une analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA 2) et un test de Scheffé, pour mettre en évidence les différences significatives ($P < 0,05$) entre périodes.

L'analyse statistique des acides gras a été expliquée au point 3.3.3.

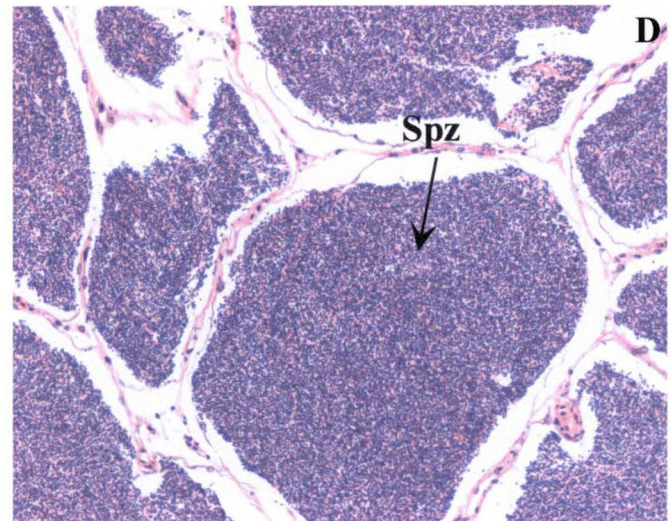
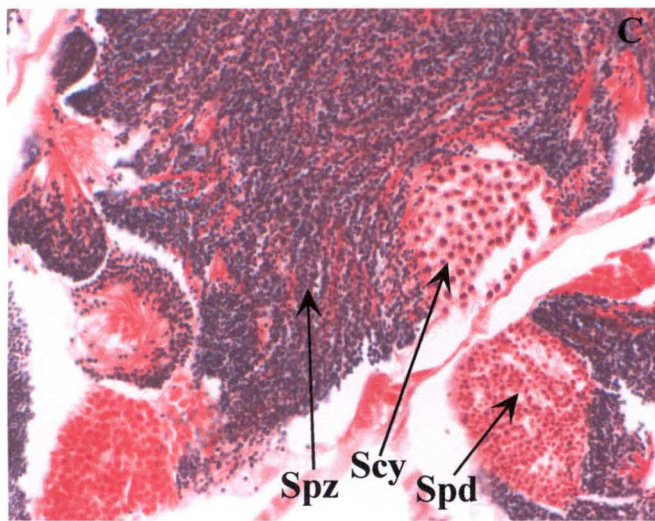
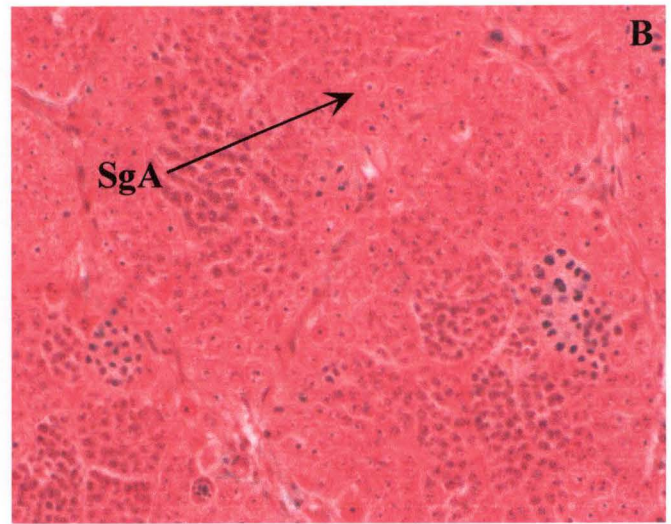
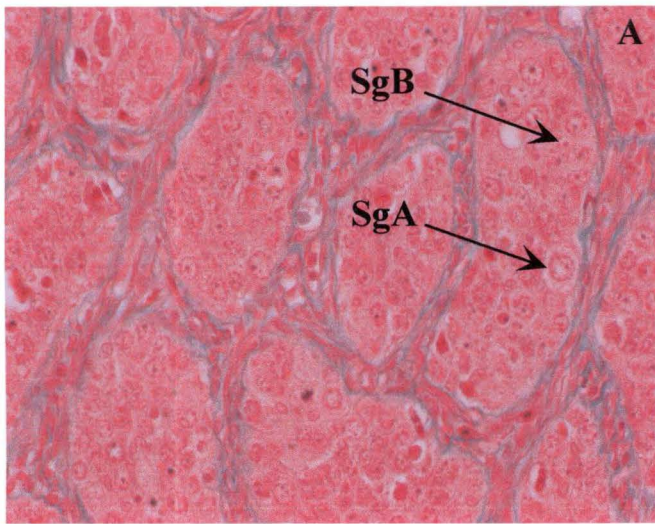


Figure 2.7: Présentation des différentes étapes de la spermatogenèse.

A: testicule du mois d'août (grossissement 400 x).

B: testicule du mois d'août (grossissement 400 x).

C: testicule du mois d'octobre (grossissement 400 x).

D: mâle spermiant (grossissement 200 x).

SgA = spermatogonie A, SgB = spermatogonie B, Scy = spermatocyte, Spd = spermatide, Spz = spermatozoïde.

5 Etude de la composition des muscles

5.1 Contenu lipidique, quantification et détermination des acides gras

5.1.1 Extraction des lipides totaux

Les lipides musculaires ont été extraits avec un mélange chloroforme/méthanol/eau (10:10:9, vol/vol/vol) suivant la méthode de Bligh & Dyer (1959). Les morceaux de muscles dont la masse était comprise entre 25 et 50 g ont été broyés à l'aide d'un mixer Waring 38BL40. Il est important de noter que 100 g de chair contiennent environ 80% d'eau, il faut donc en tenir compte lors de l'ajout de l'eau/KCl 0,88 %. La routine expérimentale est présentée dans l'annexe 8.

5.1.2 Détermination et quantification des acides gras

La préparation des FAME pour la chromatographie en phase gazeuse et le dosage des acides gras ont été présentés au point 3.3.2.

5.1.3 Analyse des résultats

L'analyse statistique a été présentée au point 3.3.3.

6 Etude des graisses périviscérales

6.1 Indice liposomatique

Nous calculons un indice que nous nommerons l'indice liposomatique (ILS). Celui-ci a été calculé sur tous les individus prélevés dans le milieu et correspond au rapport entre le poids des graisses périviscérales (L en g) et le poids total du poisson (P en g).

$$\text{ILS (\%)} = (L \times 100)/P$$

Troisième partie:

Résultats

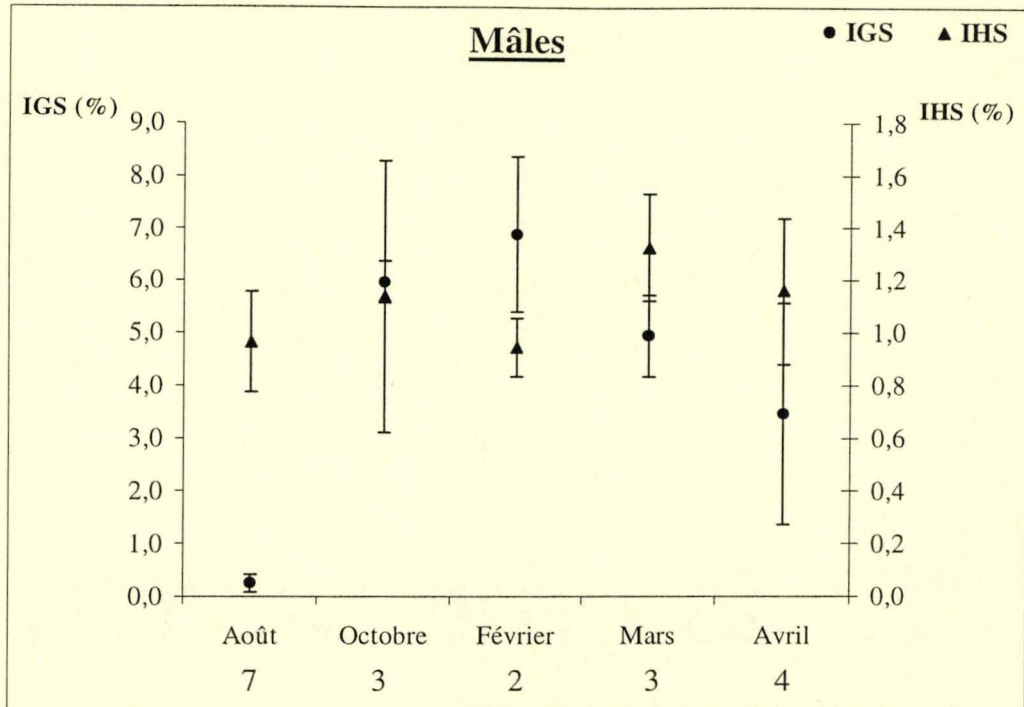


Figure 3.1: Variation saisonnière de l'IGS et de l'IHS chez des perches mâles capturées en Haute Meuse entre août 2001 et avril 2002. Les valeurs situées en dessous des mois correspondent au nombre de poissons pris en compte lors du calcul des indices. Les barres représentent l'écart-type.

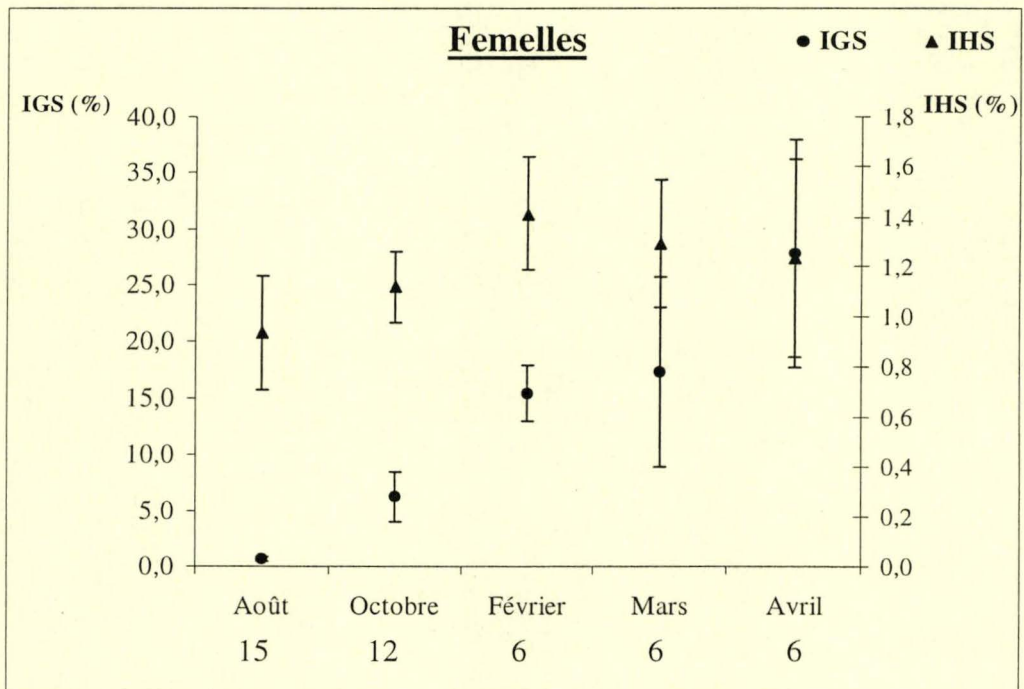


Figure 3.2: Variation saisonnière de l'IGS et de l'IHS chez des perches femelles capturées en Haute Meuse entre août 2001 et avril 2002. Les valeurs situées en dessous des mois correspondent au nombre de poissons pris en compte lors du calcul des indices. Les barres représentent l'écart-type.

1 Prélèvements des poissons dans le milieu naturel

Au cours de nos cinq campagnes de pêche, nous avons pris un total de 66 poissons. Les lieux et dates des pêches, ainsi que les caractéristiques morphologiques des perches sont repris dans l'annexe 9. Nous nous sommes fixés un quota minimum de 10 poissons par période. L'absence de dimorphisme sexuel chez la perche, nous impose ce quota, de manière à obtenir au minimum trois mâles et trois femelles par périodes. De plus, pour nous situer dans une gamme de poids équivalente à celle des perches commercialisables en Europe, ainsi que pour éviter toute influence de l'âge (jeunes individus immatures ou individus trop âgés), nous avons décidé d'étudier des poissons dont le poids est compris entre 150 g et 500 g. Comme nous l'avons déjà mentionné dans la seconde partie de ce manuscrit, ce quota fut difficilement atteint suite à la sélectivité des engins de pêche, à une différence dans le sex-ratio des poissons capturés (nous avons capturé beaucoup plus de femelles que de mâles), aux conditions climatiques défavorables (cruée en Meuse durant le mois de février). Dans certains cas, nous avons donc dû utiliser des femelles de poids supérieur à 500 g.

2 Les indices morphométriques (IGS, IHS, ILS et K)

Les différents indices sont repris dans le tableau 3.1 ainsi qu'aux figures 3.1, 3.2, 3.3 et 3.4. Les poids des divers organes sont présentés en annexe 9.

Tableau 3.1: Les différents indices morphométriques chez les perches mâles et femelles au cours du cycle annuel de reproduction et leur stade de développements gonadaux.

Périodes	Mâles				Femelles			
	IGS	IHS	ILS	Stade de maturité	IGS	IHS	ILS	Stade de maturité
Août	0,258	0,966	1,002	Repos sexuel	0,637	0,934	1,607	Présence d'ovocytes protoplasmiques et en vitellogenèse endogène
Octobre	5,962	1,138	0,535	Maturation des testicules	6,237	1,117	0,700	Vitellogenèse exogène
Février	6,875	0,944	0,140	Spermiation	15,423	1,411	0,685	Vitellogenèse exogène
Mars	4,937	1,325	0,385	Spermiation	17,293	1,291	0,717	Vitellogenèse exogène
Avril	3,462	1,158	0,087	Spermiation	27,827	1,233	0,327	Maturation finale et ovulation

Chez les mâles (figure 3.1), nous pouvons constater que l'IGS est très faible au mois d'août (< 1 %) et qu'au fur et à mesure de l'avancement de la saison de reproduction, celui-ci augmente fortement, pour déjà atteindre 6 % au mois d'octobre. A ce moment là, les testicules présentent des spermatozoïdes, des spermatides et un grand nombre de spermatozoïdes, ce qui laisse supposer une spermatogenèse active (voir figure 2.7). Les mâles sont presque matures. En février, les mâles ont un IGS proche de 7 % et sont spermiant. Une chute des valeurs d'IGS s'observe durant les mois de mars et d'avril, suite à l'émission de sperme durant la saison de reproduction.

Chez les femelles (figure 3.2), nous remarquons que l'IGS est faible au mois d'août (< 1 %), les perches sont en repos sexuel. L'histologie des gonades nous montre des ovocytes protoplasmiques au début du mois d'août. A la mi-août quelques ovocytes entrent en vitellogenèse endogène (figure 2.6). A partir d'octobre, l'IGS est supérieur à 5 %, c'est le début de la vitellogenèse exogène. Cet IGS va augmenter, au fur et à

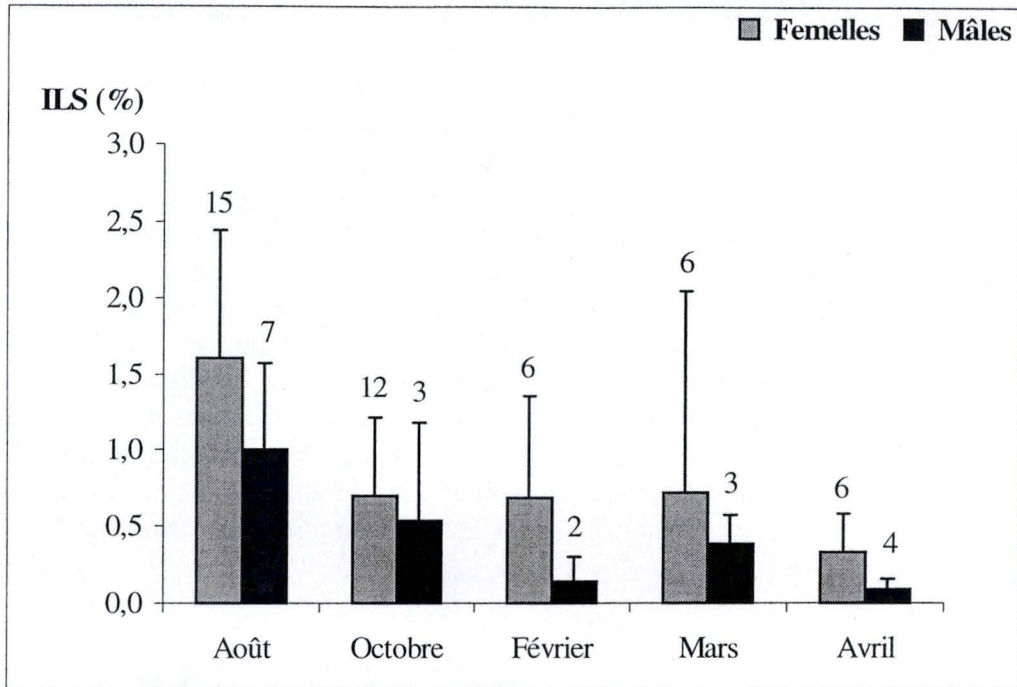


Figure 3.3: Variation saisonnière de l'indice liposomatique (ILS) chez des perches mâles et femelles, du mois d'août au mois d'avril. Les barres représentent l'écart-type. Les valeurs au-dessus de celui-ci correspondent au nombre d'individus analysés.

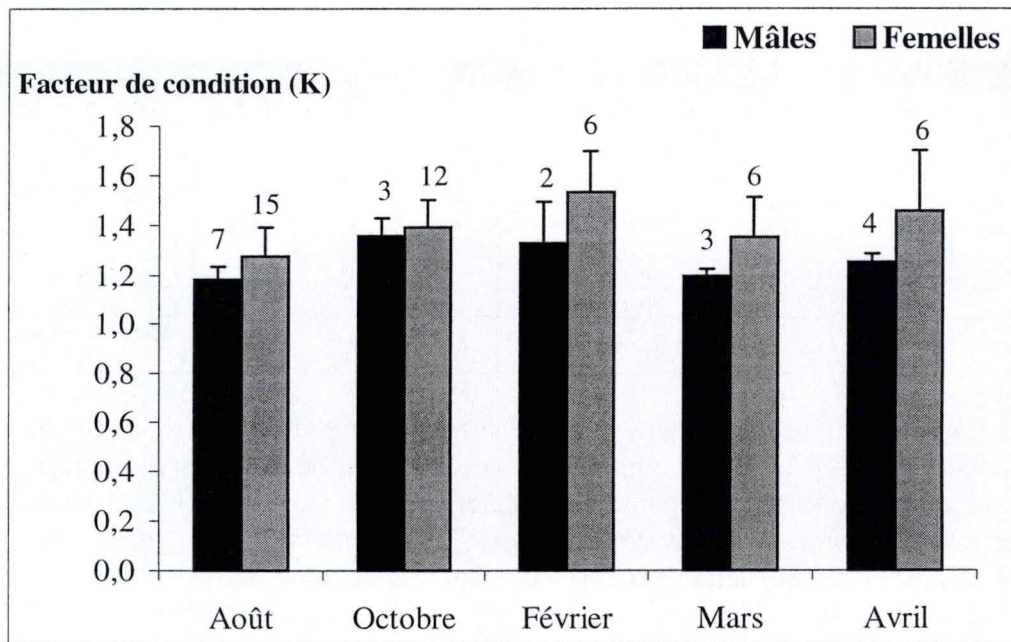


Figure 3.4: Evolution du facteur de condition chez des perches adultes mâles et femelles au cours d'un cycle annuel de reproduction. Les barres représentent l'écart-type. Les valeurs au-dessus de celui-ci correspondent au nombre d'individus analysés.

mesure de la progression de la vitellogenèse exogène pour finalement atteindre une valeur supérieure à 25 %.

Au niveau de l'IHS, nous pouvons remarquer, tant chez les mâles que chez les femelles, qu'il reste assez stable, se situant toujours aux alentours de 1 %.

Chez les femelles, l'IHS est légèrement inférieur à 1 % en août, mais il augmente rapidement jusqu'en février où il atteint une valeur de 1,4 %. Nous sommes en vitellogenèse exogène, il est donc logique d'observer cette augmentation étant donné que le foie joue un rôle important durant cette étape de la gonadogenèse. A partir du mois de mars, nous observons une diminution de cet indice jusqu'à une valeur de 1,2 % au mois d'avril.

Chez les mâles, l'ILS (figure 3.3) diminue au cours de la saison de reproduction (de 1,0 % au mois d'août à 0,09 % au mois d'avril). Il en va de même chez les femelles (de 1,6 % en août à 0,33 % en avril). L'analyse statistique ne permet pas de mettre en évidence de différences significatives ($P < 0,05$) entre les mâles et femelles. Cependant, lorsque nous réalisons le test LSD sur les mâles (annexe 10), on peut noter une différence significative entre les mois d'août et de février ainsi qu'entre août et avril. Aucune autre différence n'a pu être mise en évidence.

Chez les femelles, nous avons mis en évidence une différence significative entre août et les quatre autres mois (test LSD, annexe 10). Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre ces quatre mois.

Le facteur de condition (figure 3.4) reste stable (entre 1,2 et 1,5), tant chez les mâles que chez les femelles. Nous pouvons constater que le facteur de condition des femelles est toujours supérieur à celui des mâles. Chez les femelles, il augmente d'août à février et diminue ensuite jusqu'en avril. Chez les mâles, l'augmentation se marque jusqu'au mois d'octobre, ensuite nous observons une diminution jusqu'au mois d'avril.

3 Teneurs en lipides totaux et composition en acides gras des divers organes

3.1 Lipides totaux

3.1.1 Foie

Le test de comparaison des moyennes à variances égales (annexe 11) n'ayant pas permis de mettre en évidence de différences significatives ($P < 0,05$) entre mâles et femelles, nous regroupons l'ensemble de ces individus par périodes. Nous obtenons ainsi la figure 3.5 qui présente les variations saisonnières de la composition en lipides totaux hépatiques et sur laquelle nous pouvons voir les résultats du test LSD. Grâce à celui-ci, nous mettons en évidence une différence significative entre les mois d'août et mars, août et avril. Aucune différence n'a pu être mise en évidence ni entre les mois d'octobre, février, mars et avril, ni entre les mois d'août, octobre et février.

Si l'on observe ce graphe, on remarque une diminution des lipides totaux hépatiques du mois d'août (5,50 %) au mois d'avril (2,97 %). Cependant pour pouvoir comparer la quantité de lipides stockés dans le foie, indépendamment du poids du poisson, nous

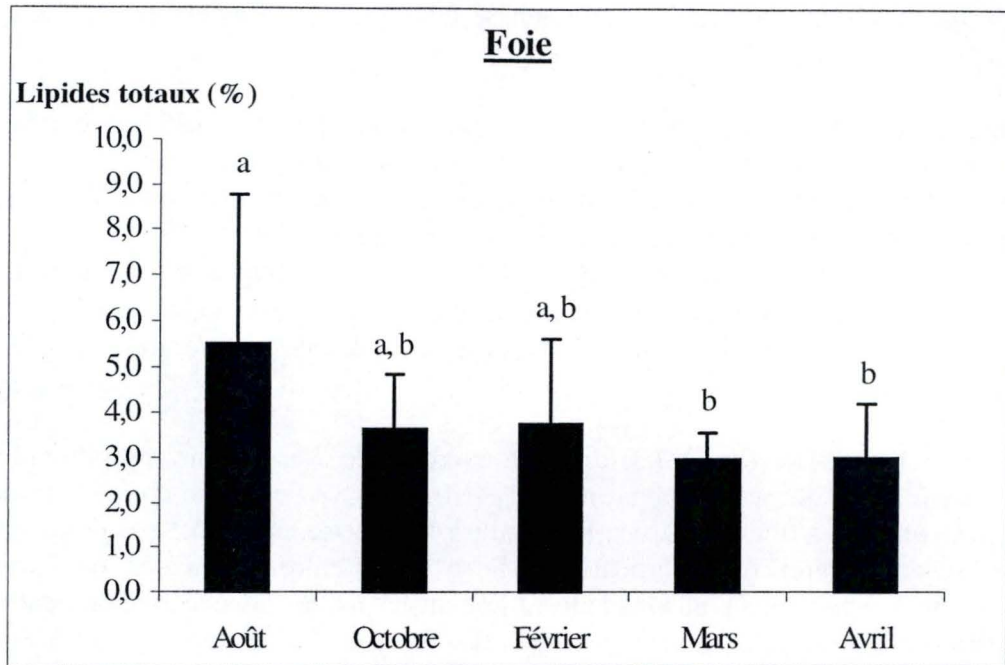


Figure 3.5: Pourcentage moyen en lipides totaux hépatiques au cours d'un cycle annuel de reproduction. *Remarque:* dans ce cas, les mâles et les femelles sont regroupés. Les barres représentent l'écart-type. Les lettres au-dessus de celui-ci correspondent aux différences significatives ($P < 0,05$).

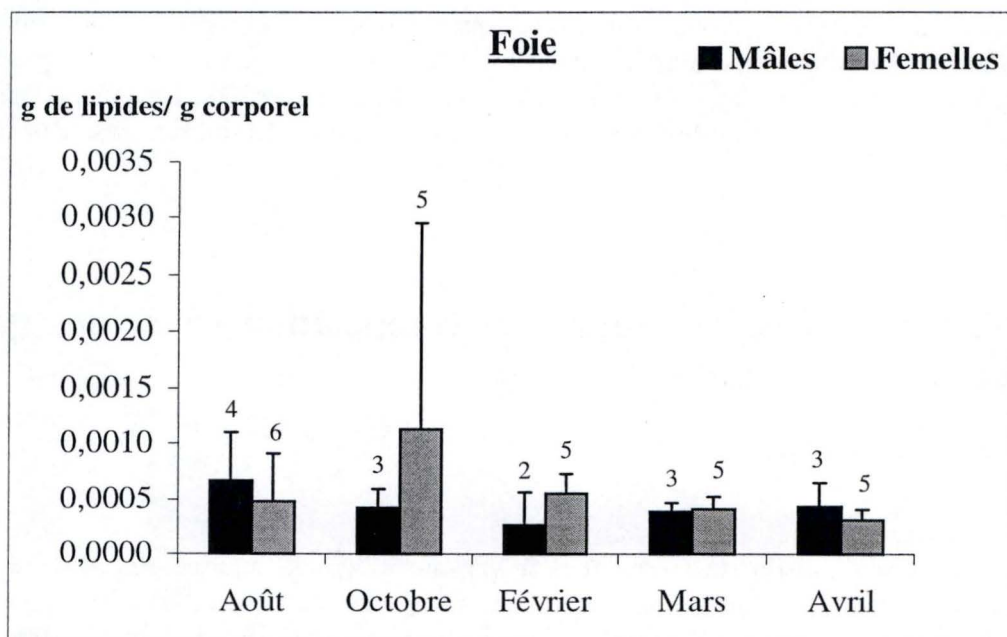


Figure 3.6: Quantité de lipides stockés dans le foie, exprimée en gramme de lipides par gramme de poids corporel, au cours d'un cycle annuel de reproduction chez des perches mâles et femelles. Les barres représentent l'écart-type. Les valeurs au-dessus de celui-ci correspondent au nombre d'individus analysés.

avons divisé la quantité de lipides totaux hépatiques par le poids corporel du poisson. Nous obtenons ainsi une valeur exprimée en gramme de lipides hépatiques par gramme de poids corporel (figure 3.6). Nous n'avons pas pu mettre en évidence de différences significatives entre les sexes et entre les cinq mois (annexe 11). Chez les mâles, on passe de 0,0007 gramme de lipides hépatiques/gramme de poids corporel en août à 0,0004 gramme de lipides hépatiques/gramme de poids corporel au mois d'avril. Chez les femelles, la teneur en lipides hépatiques par gramme de poids corporel est de 0,0005 au mois d'août, alors qu'elle est de 0,0003 au mois d'avril. Il faut remarquer la présence d'un pic au mois d'octobre dont la valeur est de 0,001 gramme de lipides hépatiques/gramme de poids corporel.

3.1.2 *Gonades*

Il faut tout d'abord constater que nous n'avons pas de données pour le mois d'août. Ceci s'explique par le fait que les gonades étant en repos sexuel, elles ne sont pas suffisamment grosses pour permettre le dosage de lipides. La figure 3.7 montre que la teneur lipidique des gonades est, en général, supérieure chez les femelles par rapport aux mâles. Au mois d'octobre, le pourcentage de lipides totaux est de 5,96 % chez les femelles contre 2,98 % chez les mâles. On peut remarquer que les teneurs en lipides totaux se situent entre 2 % et 4 % chez les mâles, alors que chez les femelles cette valeur est de l'ordre de 5 % à l'exception du mois d'avril, où elle n'est que de 2,2 %. Globalement, nous remarquons une diminution de la teneur en lipides dans les gonades mâles et femelles au cours du cycle annuel. Une différence hautement significative ($P < 0,01$) entre les sexes et une différence significative entre le mois d'avril et les trois autres mois ont été mises en évidence (ANOVA 2 et test de Scheffé, annexe 11). Comme dans le cas du foie, nous avons calculé la quantité de lipides totaux dans les gonades (en gramme) par gramme de poids corporel et ce pour pouvoir comparer la quantité de lipides stockés dans les gonades, indépendamment du poids du poisson (figure 3.8). Sur ce graphe, nous constatons que la quantité de lipides dans les gonades/gramme de poids corporel augmente chez les femelles de 0,004 au mois d'octobre à 0,01 au mois de mars. Cette valeur chute à 0,006 au mois d'avril. Chez les mâles, les valeurs restent stables, entre 0,002 et 0,0009 gramme de lipides dans les gonades/gramme de poids corporel. Une analyse à deux critères de classification met en évidence une différence hautement significative entre mâles et femelles, mais aucune différence entre les mois.

3.1.3 *Muscles*

Le test de comparaison des moyennes à variances égales (annexe 11) n'ayant pas permis de mettre en évidence de différences significatives ($P < 0,05$) entre ces deux sexes, nous pouvons regrouper ceux-ci par période (figure 3.9). Nous mettons en évidence une différence significative entre les périodes et plus particulièrement entre août et octobre, août et mars, août et avril, de même qu'entre mars et février (test LSD). Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre octobre, mars et avril. Le contenu en lipides totaux musculaires ne varie que très peu et se situe entre 0,59 % et 0,94 %.

Nous avons calculé le rapport entre les teneurs en lipide dans le foie et dans les gonades et ce de manière à déterminer si il y a transfert de l'un à l'autre. Les résultats sont présentés à la figure 3.10. Toute diminution du rapport peut être liée, soit à une

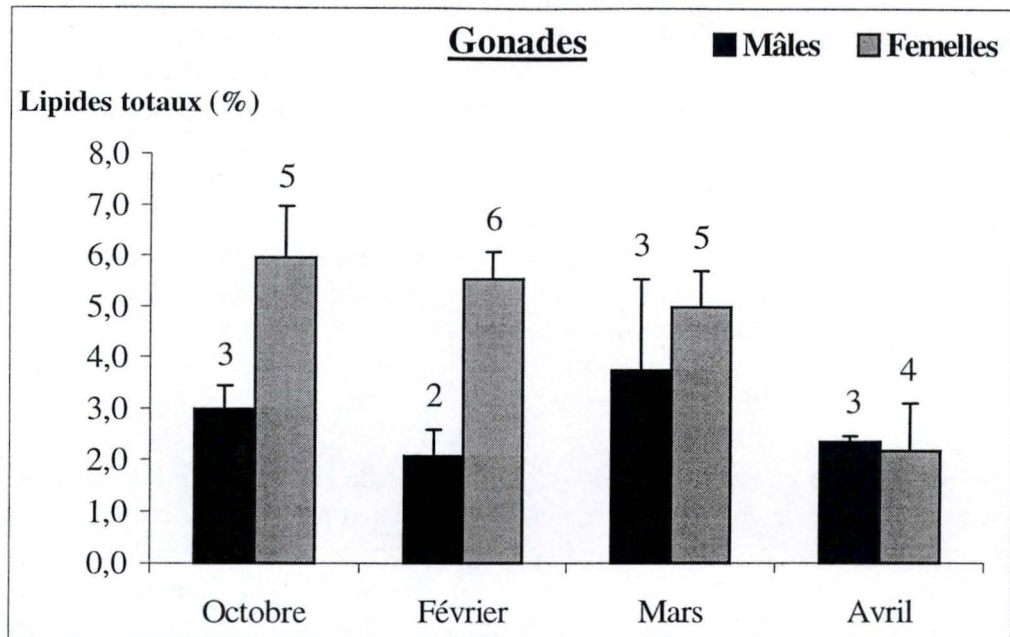


Figure 3.7: Pourcentage moyen en lipides totaux dans les gonades au cours d'un cycle annuel de reproduction chez des perches mâles et femelles. Les barres représentent l'écart-type. Les valeurs au-dessus de celui-ci correspondent au nombre d'individus analysés.

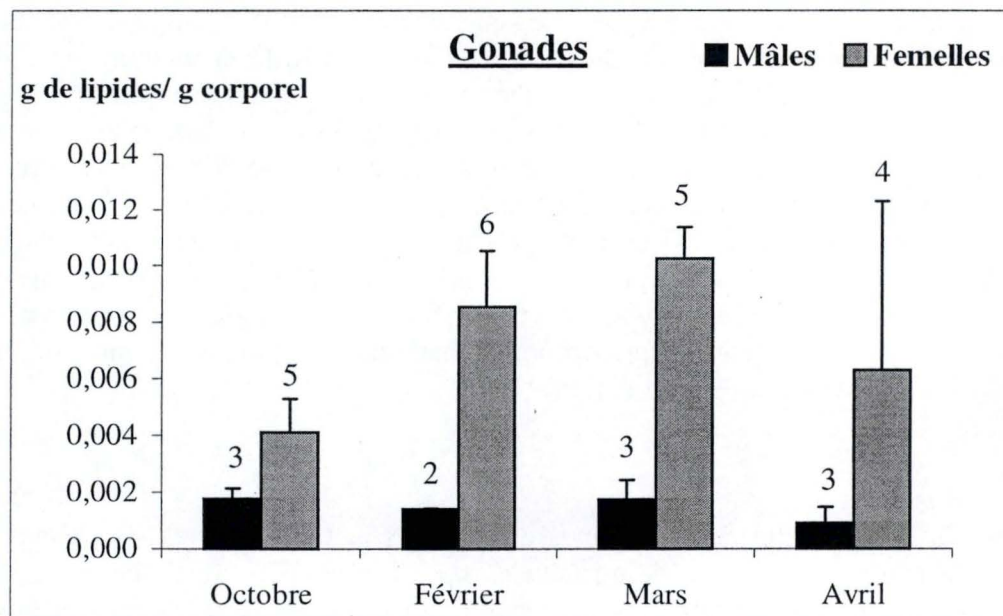


Figure 3.8: Quantité de lipides stockés dans les gonades, exprimée en gramme de lipides par gramme de poids corporel, au cours d'un cycle annuel de reproduction chez des perches mâles et femelles. Les barres représentent l'écart-type. Les valeurs au-dessus de celui-ci correspondent au nombre d'individus analysés.

augmentation des teneurs lipidiques dans les gonades, soit à une diminution des teneurs en lipides hépatiques. Chez les femelles, nous constatons une diminution du rapport. Ceci peut s'expliquer par un transfert de lipides du foie vers les gonades. En effet, les teneurs en lipides dans le foie diminuent au cours des mois, alors que celles des gonades augmentent. Chez les mâles, le rapport évolue différemment des femelles. Nous constatons tout d'abord une diminution du rapport d'octobre à février. Celle-ci est liée à une diminution des teneurs en lipides hépatiques, étant donné que la teneur gonadale en lipides reste stable. A partir du mois de mars une remontée s'amorce, suite à une faible augmentation du contenu lipidique dans le foie (voir aussi les figures 3.6 et 3.8).

3.2 Acides gras

3.2.1 Foie

La composition en acides gras hépatiques nous est donnée dans le tableau 3.2. Les acides gras les plus abondants dans le foie de perche sont le C16:0 (de 16,5 % à 25,9 %) et le DHA (de 26,5 % à 43,9 %). Aucune différence significative entre les sexes n'a pu être mise en évidence (annexe 12).

Au niveau des acides gras saturés, nous n'avons mis aucune différence significative en évidence, entre les mois. La tendance générale au cours de la saison de reproduction est à une légère diminution chez les deux sexes, de 28,5 % en août à 26,8 % en avril chez les mâles et de 27,6 % à 25,2 % chez les femelles.

Au niveau des acides gras monoinsaturés, la diminution est plus importante (de 29,9 % à 13,6 % chez les mâles contre 25,5 % à 15,0 % chez les femelles) et nous avons mis en évidence une différence significative entre août et octobre de même qu'entre août et avril (annexe 12).

Au niveau des acides gras polyinsaturés, on constate une augmentation des PUFA (n-6) chez les mâles. Cette augmentation est importante au début (on passe de 3,3 % en août à 11,9 % en octobre) et se stabilise par la suite (entre 11 et 12 %). Chez les femelles, nous observons une augmentation d'août (7,8 %) à février (12,9 %) et une diminution jusqu'en avril (11,5 %). Dans ce cas, nous avons mis en évidence une différence significative entre le mois d'août et les quatre autres mois (annexe 12). Nous constatons une augmentation au niveau des PUFA (n-3) tant chez les mâles (de 34,4 % à 39,9 %) que chez les femelles (de 35,1 % à 45,1 %). Nous avons pu mettre en évidence une différence significative entre le mois d'août et d'avril (annexe 12). Les C18:2 (n-6) et C18:3 (n-3) diminuent au cours de la saison de reproduction.

Pour l'EPA, nous n'avons pas réussi à mettre en évidence de différences significatives. Cependant, nous constatons que chez les mâles et les femelles, cet acide gras augmente jusqu'au mois de février, pour ensuite diminuer au cours des mois de mars et d'avril. Les teneurs en EPA oscillent entre 5 % et 7 % aussi bien chez les mâles que chez les femelles. Le DHA augmente (de 26,6 à 38,0 %) au cours du cycle reproducteur chez les femelles, alors que chez les mâles, le DHA suit la même tendance que l'EPA, à savoir une augmentation jusqu'en février (de 28,2 % à 43,9 %) et ensuite une diminution (36,4 %). Pour le DHA, nous avons pu mettre en évidence une différence significative entre le mois d'août et d'octobre et le mois d'août et d'avril (annexe 12).

Pour l'AA, nous avons pu mettre en évidence une différence significative entre le mois d'août et les quatre autres mois. Nous constatons une augmentation de cet acide

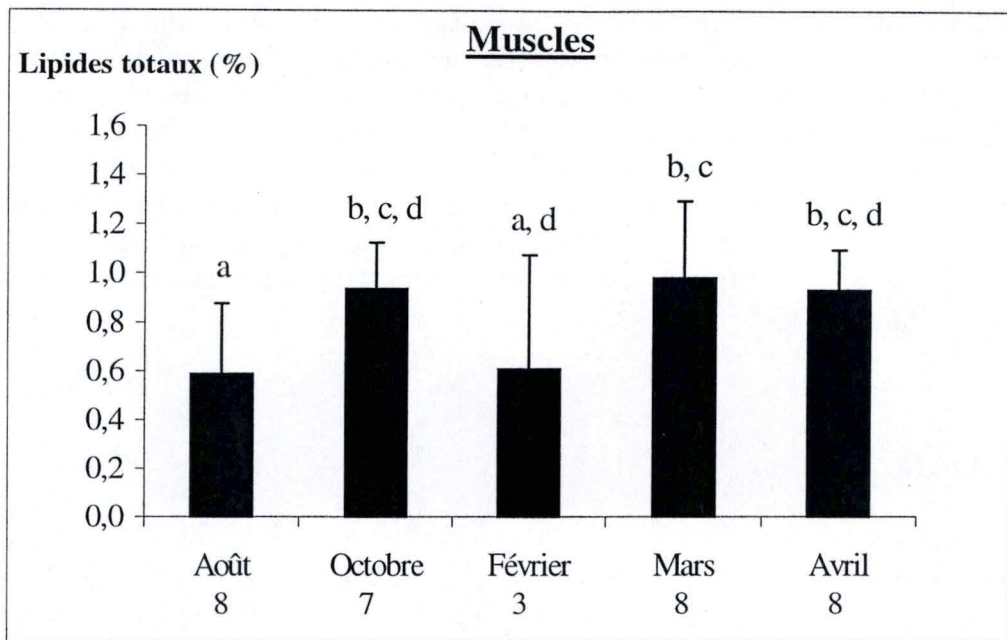


Figure 3.9: Pourcentage de lipides totaux dans les muscles de perches adultes au cours d'un cycle annuel de reproduction. *Remarque:* dans ce cas, les mâles et les femelles sont regroupés. Les valeurs en dessous des mois correspondent aux nombres d'individus étudiés. Les barres représentent l'écart-type. Les lettres au-dessus de celui-ci correspondent aux différences significatives ($P < 0,05$).

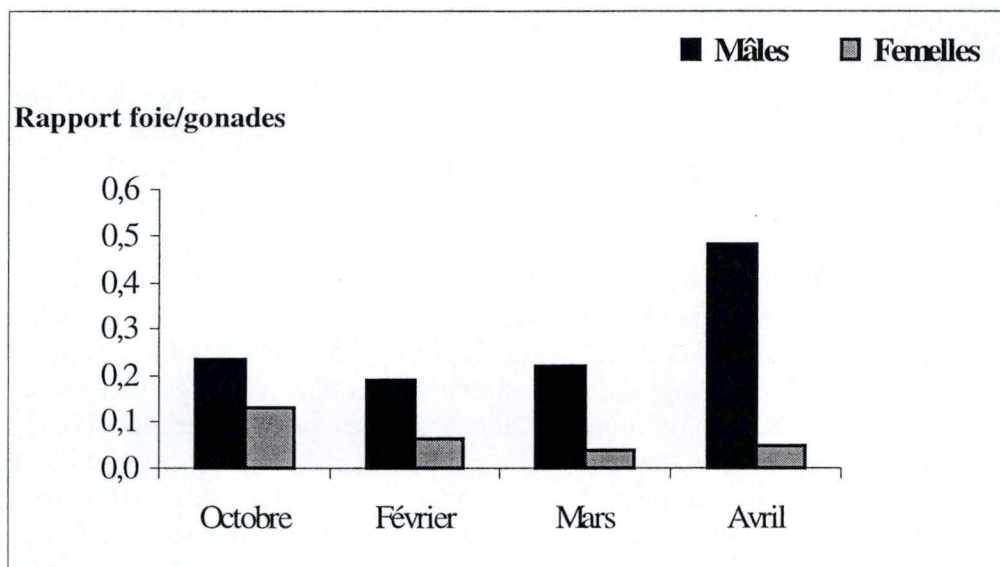


Figure 3.10: Variation saisonnière du rapport entre les quantités de lipides totaux (exprimée en gramme de lipides par gramme de poids corporel) contenues dans le foie et les gonades chez des perches mâles et femelles prélevées en Haute Meuse entre août 2001 et avril 2002.

gras au cours du cycle de reproduction chez les femelles (de 5,3 % à 10,4 %), tandis que chez les mâles, la tendance est toujours la même, augmentation jusqu'en février (de 8,9 % à 11,3 %), puis diminution (9,6%).

Nous n'observons pas d'acides gras à plus de 22 carbones.

Tableau 3.2: Pourcentage d'acides gras dans le foie des perches adultes mâles et femelles, au cours d'un cycle annuel de reproduction.

Foies	Mâles					Femelles				
	Août	Octobre	Février	Mars	Avril	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
Acides gras saturés										
C14:0	1,31	0,71		1,01	0,77	1,48	0,67	0,75	0,94	0,79
C16:0	21,30	20,91	25,92	18,82	21,32	21,15	20,93	16,54	17,30	16,69
C18:0	5,91	6,46	7,52	5,34	4,67	5,00	7,82	6,88	7,42	7,75
Total	28,52	28,09	29,68	25,17	26,76	27,64	29,19	24,17	25,66	25,22
Acides gras monoinsaturés										
C16:1	12,28	4,98	6,01	7,60	4,85	13,63	5,21	6,31	5,84	4,60
C18:1	17,56	9,43	9,58	12,31	8,75	11,91	8,20	14,66	12,33	10,43
C20:1		0,31		0,65				0,41	0,50	
Total	29,85	14,51	10,80	20,13	13,60	25,53	13,41	21,25	18,33	15,03
Acides gras polyinsaturés										
C18:2 (n-6)	3,30	2,93	1,69	3,05	2,01	4,27	0,92	3,21	1,28	1,53
C20:3 (n-6)				0,51	0,52			0,64	0,23	
C20:4 (n-6)		8,93	11,30	7,95	9,64	5,30	10,09	9,51	10,13	10,44
Total n-6	3,30	11,85	12,14	11,18	11,99	7,80	11,01	12,93	7,75	11,46
C18:3 (n-3)	0,86	0,55		1,12	0,52	1,04	0,61	0,64	0,30	0,66
C18:4 (n-3)					0,12	0,40	0,16	0,26	0,19	
C20:5 (n-3)	4,49	5,77	6,97	6,39	5,28	5,61	5,93	6,48	5,38	5,35
C22:5 (n-3)	0,81	1,46		1,92	1,34	1,93	1,66	1,56	1,39	1,54
C22:6 (n-3)	28,20	35,04	43,89	30,86	36,40	26,55	35,05	29,89	35,55	37,99
Total n-3	34,36	42,64	47,37	39,92	43,40	35,05	42,35	38,44	42,65	45,10
n-3/n-6 ratio	10,40	3,62	3,89	3,72	3,64	4,59	3,85	3,08		3,93
DHA/EPA ratio	6,28	6,21		4,83	6,89	4,64	6,15	4,62	6,69	7,15
C24										

3.2.2 Gonades

La composition en acides gras dans les gonades est présentée dans le tableau 3.3. Les acides gras les plus importants dans les gonades sont le C16:0 (9,1 % à 21,1 %), le C18:1 (n-9) (9,3 % à 21,7 %) et le DHA (19,0 % à 35,0 %). Les traitements statistiques nous ont permis de mettre en évidence une différence significative entre les gonades mâles et femelles quant à la composition en acides gras (annexe 12).

Les acides gras saturés sont plus importants dans les gonades mâles (entre 22,4 % et 28,9 %) que dans les gonades femelles (entre 12,2 % et 16,6 %). Alors que chez les mâles, la teneur en acides gras saturés augmente durant le cycle reproducteur, chez les femelles, celle-ci varie peu.

Les acides gras monoinsaturés augmentent de 19,8 % à 25,4 % chez les femelles, au cours du cycle de reproduction. Par contre, chez les mâles, nous pouvons constater une diminution des concentrations de 22,6 % en octobre à 16,5 % en mars. Une augmentation se marque au mois d'avril (26,9 %). Les acides gras polyinsaturés de la famille (n-6) et (n-3) présentent des variations similaires tant chez les mâles que chez les femelles. Tout d'abord, les teneurs en PUFA sont plus faibles chez les femelles que chez les mâles, deuxièmement, dans tous les cas, nous notons une augmentation du pourcentage en PUFA au cours de la saison de reproduction. Il faut cependant

remarquer que la valeur pour les PUFA (n-3) chez les mâles d'avril est plus basse que celle des trois autres mois, ainsi que celle des femelles. Cette valeur semble être anormalement faible vu la grande variabilité. Au niveau du C18:2 (n-6), nous n'avons pu mettre de différences significatives en évidence ni entre les périodes, ni entre les deux sexes. Cependant, nous pouvons constater une tendance à l'augmentation des teneurs en acides gras au cours de l'année, et ce tant chez les mâles (3,6 % à 4,0%), que chez les femelles (3,0 % à 5,4 %).

L'EPA varie très peu entre mâles et femelles au cours des mois d'octobre et février (6%), cependant une variation se marque en mars, en effet, chez les mâles, nous atteignons une valeur de 9,3 %, valeur qui va diminuer au mois d'avril. Mais chez les femelles, le taux d'EPA reste toujours aux alentours de 6 %.

Le DHA est plus important dans les gonades mâles (30 %) que dans les gonades femelles (20 à 25 %). Chez les mâles, nous observons que le DHA augmente jusqu'au mois de février (de 31,8 % à 35 %) avant de diminuer faiblement en avril (30,2 %). Chez les femelles, nous constatons une augmentation d'octobre (19 %) à mars (25,2 %) et enfin une diminution au mois d'avril (24,6 %). L'acide arachidonique reste toujours aux alentours de 6 % chez les femelles, alors qu'il augmente au cours du cycle reproducteur chez les mâles (de 8,9 % en octobre à 13,2 % en avril).

Dans les gonades, nous trouvons des acides gras à chaînes carbonées supérieures à 22 carbones. Ceux-ci pourraient être des acides gras à 24 carbones. On peut remarquer d'une part que la teneur en cet acide gras diminue (de 16,0 % à 3,1 %) au cours du cycle de reproduction et d'autre part, que cet acide gras n'est présent qu'au sein des gonades femelles.

Tableau 3.3: Pourcentage d'acides gras dans les gonades de perches adultes mâles et femelles au cours d'un cycle saisonnier de reproduction.

Gonades	Mâles				Femelles			
	Octobre	Février	Mars	Avril	Octobre	Février	Mars	Avril
Acides gras saturés								
C14:0	1,15	0,92	0,90	1,38	0,47	0,53	0,49	0,54
C16:0	19,36	17,13	18,82	21,10	9,07	10,42	10,54	11,06
C18:0	4,97	5,37	5,32	6,41	2,62	2,75	5,53	2,89
Total	22,42	23,42	24,73	28,89	12,17	13,70	16,55	14,50
Acides gras monoinsaturés								
C16:1	3,85	3,15	3,63	4,98	6,66	8,31	8,34	8,48
C18:1	18,72	16,58	12,92	21,68	9,34	12,63	12,59	12,47
C20:1				0,74	3,86	4,44	4,58	3,97
Total	22,57	19,74	16,55	26,90	19,85	25,38	25,50	24,92
Acides gras polyinsaturés								
C18:2 (n-6)	3,58	1,81	4,59	4,03	3,01	5,10	3,71	5,42
C20:3 (n-6)				0,31	0,15	0,70	0,14	0,13
C20:4 (n-6)	8,85	11,84	10,56	13,23	6,34	6,03	6,64	6,17
Total n-6	12,44	13,65	15,15	16,02	9,43	11,36	10,40	11,64
C18:3 (n-3)				0,34	0,78	0,86	0,92	1,00
C18:4 (n-3)					1,80	1,20	1,54	1,26
C20:5 (n-3)	6,65	6,11	9,33	8,02	6,37	6,03	6,17	5,92
C22:5 (n-3)	2,22	1,29		2,41	1,87	1,71	1,81	2,09
C22:6 (n-3)	31,79	34,97	34,24	30,21	19,00	21,03	25,18	24,65
Total n-3	40,66	42,36	43,57	27,21	29,81	30,83	35,62	34,49

Gonades	Mâles				Femelles			
	Octobre	Février	Mars	Avril	Octobre	Février	Mars	Avril
n-3/n-6 ratio	3,28	3,10	2,96	2,35	3,17	2,85	3,44	2,96
DHA/EPA ratio	4,77	5,73	3,69	2,51	2,98	3,52	4,09	4,19
C24					15,99	5,55		3,10

3.2.3 Muscles

La composition en acides gras des muscles nous est donnée dans le tableau 3.4. Les acides gras les plus abondants dans les muscles sont le C16:0 (de 16,7 % à 21,3 %), le C18:1 (n-9) (de 7,7 % à 19,9 %) et le DHA (de 22,4 % à 31,0 %). Nous n'avons pas pu mettre en évidence d'effets des mois seuls sur la composition en acides gras. Nous avons mis en évidence une seule différence significative entre mâles et femelles au niveau du C20:5 (n-3) ou EPA (annexe 12). Les teneurs en acides gras saturés restent stables au cours du cycle reproducteur tant chez les mâles (entre 21,1 % et 23,5 %) que chez les femelles (entre 20,6 % et 24,3 %). Chez les mâles, les acides gras monoinsaturés diminuent tout au long de la saison de reproduction (de 16,9 % en août à 12,1 % en avril), alors que chez les femelles, ils passent de 18,0 % en août à 14,1 % en avril, mais présentent un important pic au mois de février (31,1 %). Les acides gras polyinsaturés de la famille (n-6) augmentent chez les femelles du mois d'août (8,7 %) au mois de février (12,1 %) et diminuent ensuite jusqu'en avril (9,4 %). La tendance inverse s'observe chez les mâles. Au mois d'août, la teneur en PUFA (n-6) est de 11,9 %, elle n'est plus que de 7,2 % en février, tandis qu'elle est de 10,2 % au mois d'avril. En ce qui concerne les PUFA (n-3) et le DHA, nous observons une augmentation chez les deux sexes. Le C18:3 (n-3) reste stable chez les femelles d'août (0,8 %) à octobre (0,9 %), mais diminue par la suite (0,5 % en avril). Le C18:2 (n-6) reste stable chez les femelles (aux environs de 2 %) à l'exception du mois de février où il atteint 5,2 %. Chez les mâles, nous assistons à une diminution d'août (3,4 %) à février (1,4 %), avant une remontée au mois de mars et avril (> 2,5 %). L'EPA reste stable (9,3 %) chez les femelles d'août à avril. Ensuite, une faible diminution s'observe jusqu'en avril (8,1 %). Chez les mâles, une augmentation de l'EPA se marque entre le mois d'août (4,5 %) et d'octobre (9,8 %). Ensuite, l'EPA diminue jusqu'au mois d'avril (7,4 %). L'AA augmente légèrement chez les femelles de 5,9 % en août à plus ou moins 7 % au printemps, alors que chez les mâles, une diminution est observée entre août (8,3 %) et février (5,8 %). En avril, les teneurs sont similaires à celles des femelles. Il faut noter l'existence d'un acide gras dont la chaîne carbonée est supérieure à 22 carbones et dont la quantité est parfois élevée (> 10 %). Celui-ci pourrait être un acide gras à 24 carbones.

Tableau 3.4: Pourcentage d'acides gras dans les muscles de perches adultes mâles et femelles, au cours d'un cycle saisonnier de reproduction.

Muscles	Mâles					Femelles				
	Août	Octobre	Février	Mars	Avril	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
Acides gras saturés										
C14:0	0,85	1,10	0,40	1,15	0,74	1,31		1,26	0,94	0,86
C16:0	17,95	17,35	19,27	18,91	17,33	18,25		21,31	16,96	16,78
C18:0	4,57	4,19	2,58	3,41	3,08	4,06		3,25	3,51	2,98
Total	23,38	22,65	22,24	23,46	21,15	23,62		24,31	21,41	20,62

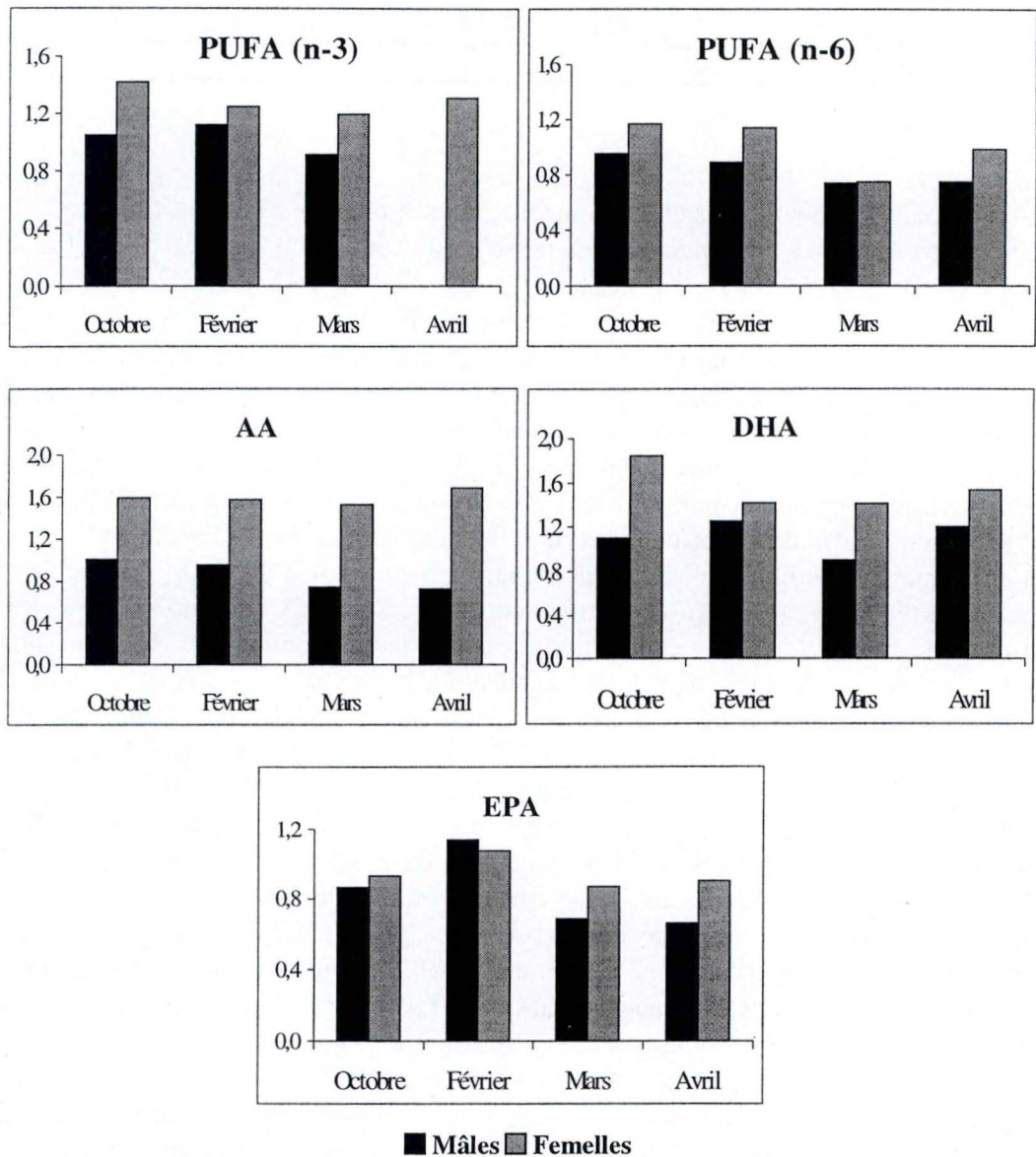


Figure 3.11: Variation saisonnière du rapport entre les quantités de différents acides gras contenues dans le foie et les gonades chez des perches mâles et femelles prélevées en Haute Meuse entre août 2001 et avril 2002.

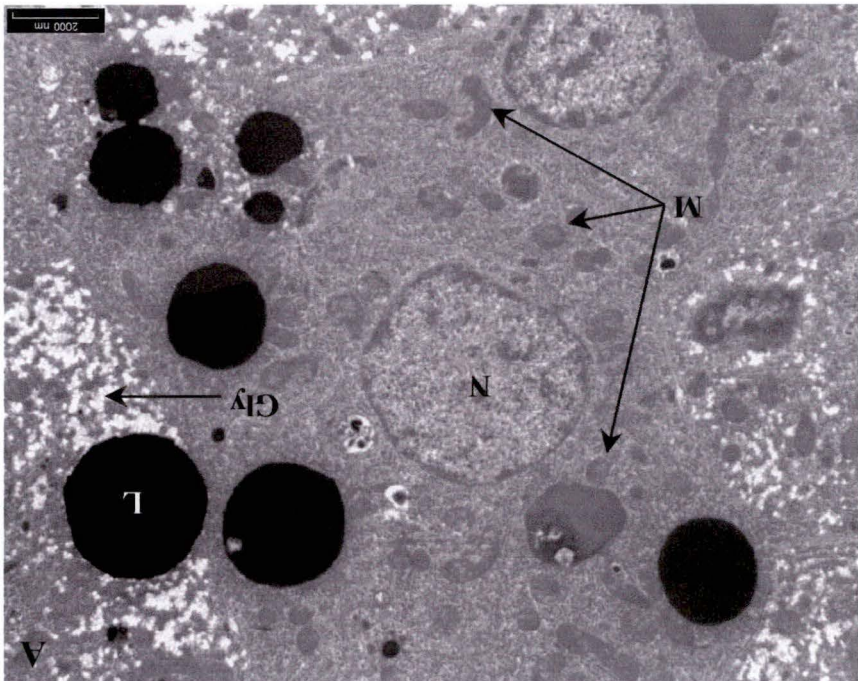
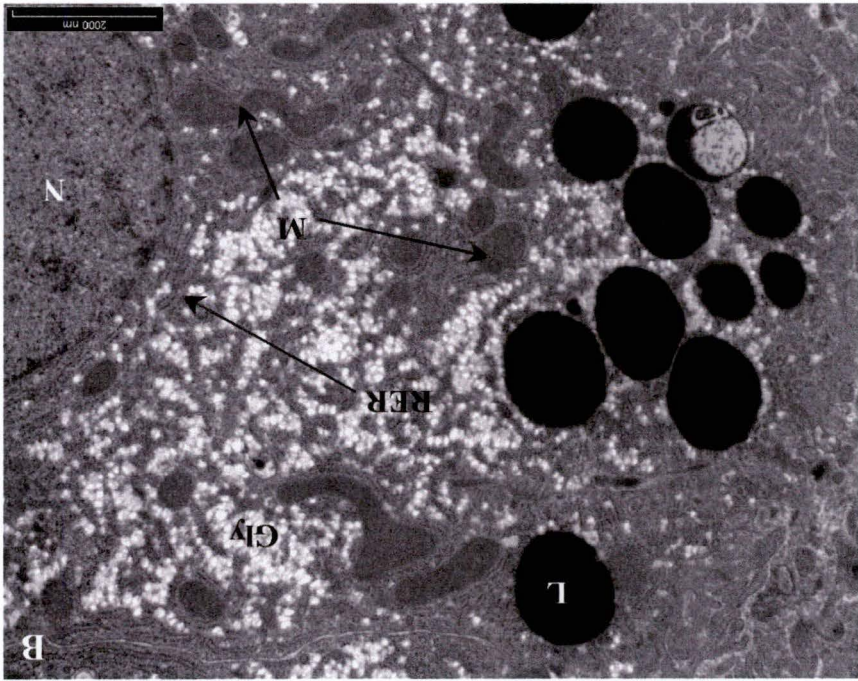
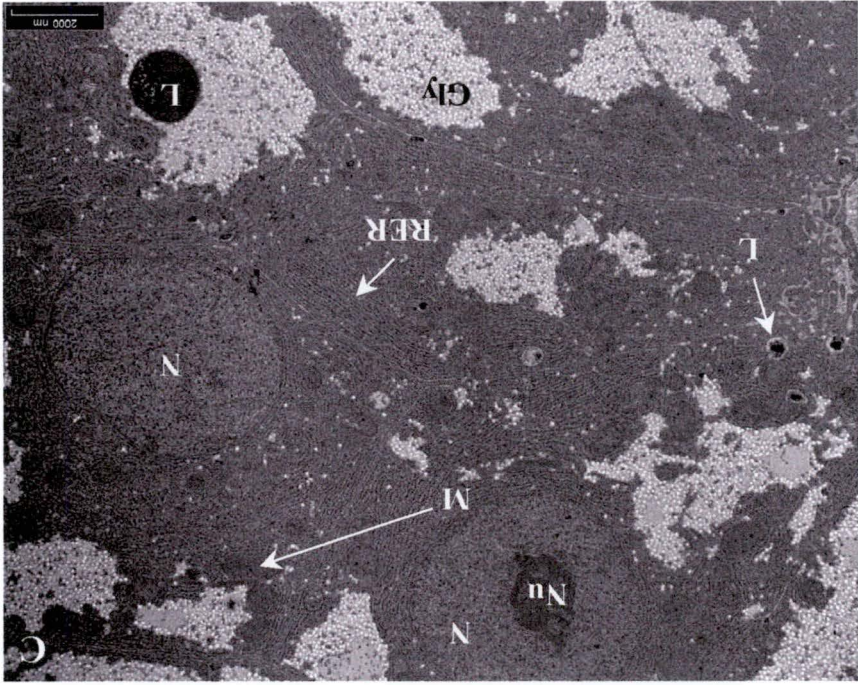
Muscles	Mâles					Femelles				
	Août	Octobre	Février	Mars	Avril	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
Acides gras monoinsaturés										
C16:1	5,48	5,91	3,39	7,11	4,30	5,57		11,09	5,75	5,21
C18:1	11,28	12,44	8,09	13,88	7,70	12,43		19,86	11,30	8,79
C20:1	0,13	0,09			0,47			0,60	0,40	0,27
Total	16,89	18,44	11,48	20,99	12,16	18,00		31,14	17,32	14,13
Acides gras polyinsaturés										
C18:2 (n-6)	3,40	2,56	1,42	2,69	2,50	2,58		5,17	2,33	2,24
C20:3 (n-6)	0,20	0,16			0,24	0,22			0,19	0,23
C20:4 (n-6)	8,25	6,47	5,76	6,41	7,62	5,94		6,91	7,29	6,92
Total n-6	11,85	9,20	7,18	9,10	10,20	8,67		12,08	9,74	9,39
C18:3 (n-3)	0,37	0,81		0,80	0,50	0,78		0,91	0,48	0,48
C18:4 (n-3)	0,00				0,10	0,35		0,33	0,14	0,15
C20:5 (n-3)	4,46	9,78	6,12	8,97	7,38	9,27		9,30	7,60	8,05
C22:5 (n-3)	2,46	3,39	3,01	3,77	2,91	2,70		2,11	2,79	2,62
C22:6 (n-3)	25,42	23,31	29,90	28,86	31,02	22,44		23,30	27,65	28,28
Total n-3	32,71	37,29	39,04	42,39	41,68	35,43		26,96	38,56	39,57
n-3/n-6 ratio	2,76	4,05	5,44	4,66	4,12	4,12		2,36	3,96	4,22
DHA/EPA ratio	5,70	2,38	5,06	3,22	4,32	2,45		2,02	3,66	3,55
C24		8,82	11,85	1,49	9,05	6,61		5,68	7,68	10,85

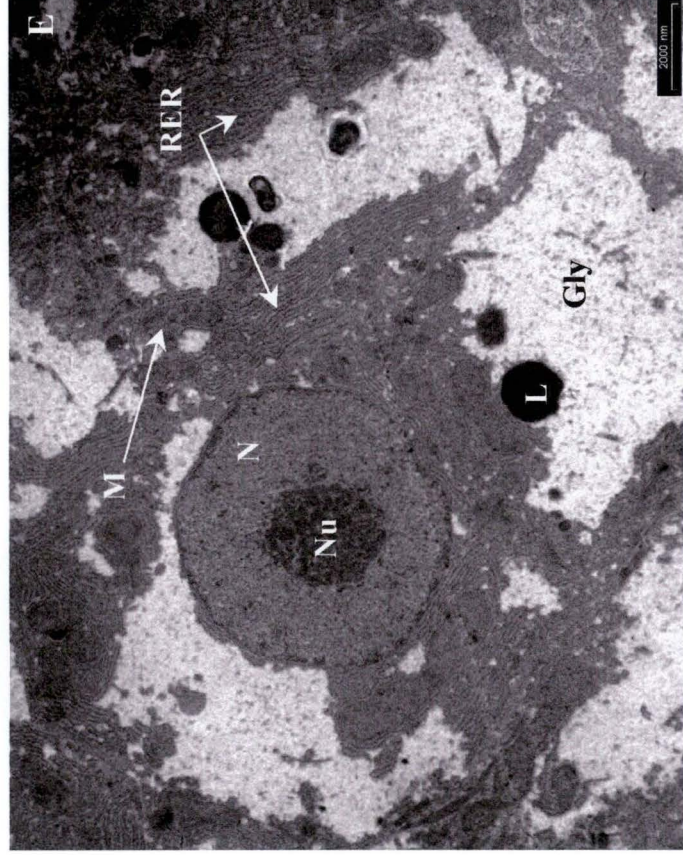
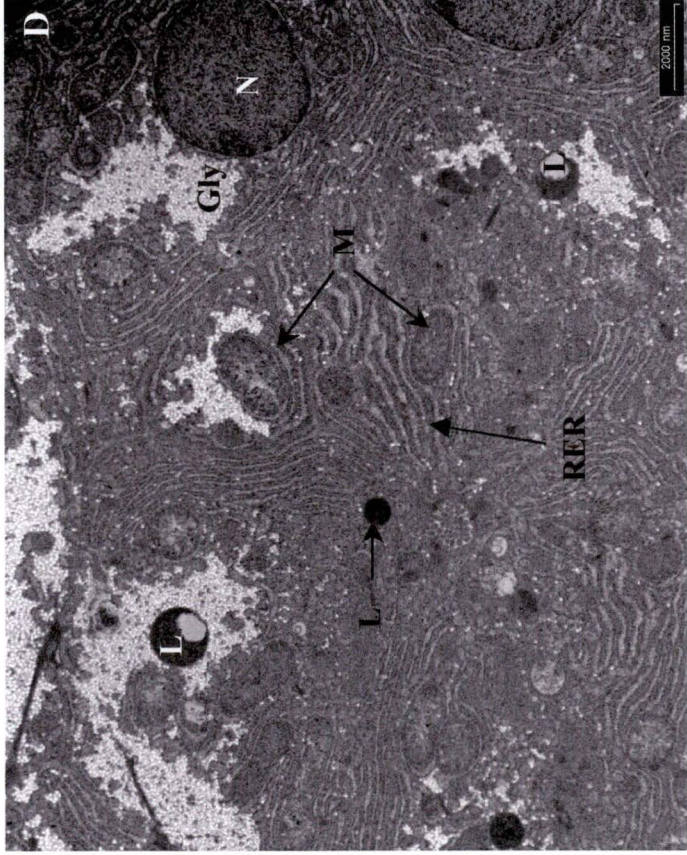
Pour résumer, chez les mâles, nous pouvons constater une diminution des acides gras saturés, monoinsaturés et C18:2 (n-6) à la fois dans les muscles et le foie, alors qu'ils augmentent dans les gonades au cours du cycle de reproduction. Par contre l'EPA, DHA et PUFA (n-3) augmentent dans les trois organes. Enfin les PUFA (n-6) et acide arachidonique diminuent dans les muscles, alors qu'ils augmentent dans le foie et les gonades.

Chez les femelles, les acides gras saturés et monoinsaturés diminuent dans le foie et les muscles, mais augmentent dans les gonades. Les C18:2 (n-6) et C18:3 (n-3) diminuent dans le foie et les muscles, mais augmentent dans les gonades. Les PUFA (n-3), (n-6), DHA augmentent dans les trois organes à la fois au cours du cycle annuel de reproduction. L'AA augmente dans les muscles et le foie, mais il reste constant dans les gonades. L'EPA diminue dans les muscles et les gonades. Mais dans le foie, cet acide gras augmente jusqu'au mois de février, pour ensuite diminuer au cours des mois de mars et d'avril.

Dans le cas des acides gras, nous avons également calculé le rapport entre les teneurs en différents acides gras dans le foie et dans les gonades et ce de manière à déterminer s'il y a transfert de l'un à l'autre. Les résultats sont présentés à la figure 3.11. Chez les femelles, nous constatons une diminution du rapport entre le mois d'octobre et le mois de mars, pour les PUFA (n-3), (n-6) et DHA. Ceci résulte d'une augmentation de ces acides gras dans les gonades. De mars à avril, nous observons une augmentation du rapport, ce qui résulte d'une diminution des teneurs en acides gras dans les gonades avec une augmentation dans le foie. Pour l'AA, le rapport reste relativement stable. Quant à l'EPA, nous constatons une augmentation du rapport d'octobre à février suite à une augmentation des teneurs dans le foie. De février à avril, le rapport diminue, cela résulte d'une diminution dans le foie, alors que les teneurs restent constantes dans les gonades.

Chez les mâles, la tendance est exactement la même pour l'EPA, mais la diminution de février à mars résulte d'une augmentation de cet acide gras dans les gonades et de sa diminution dans le foie. Le rapport PUFA (n-3) augmente d'octobre à février et





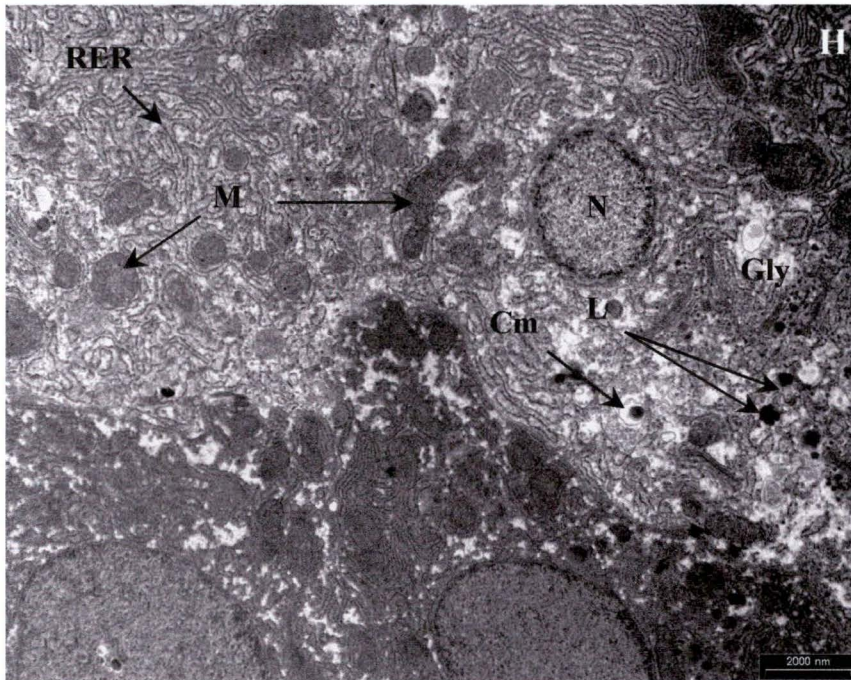
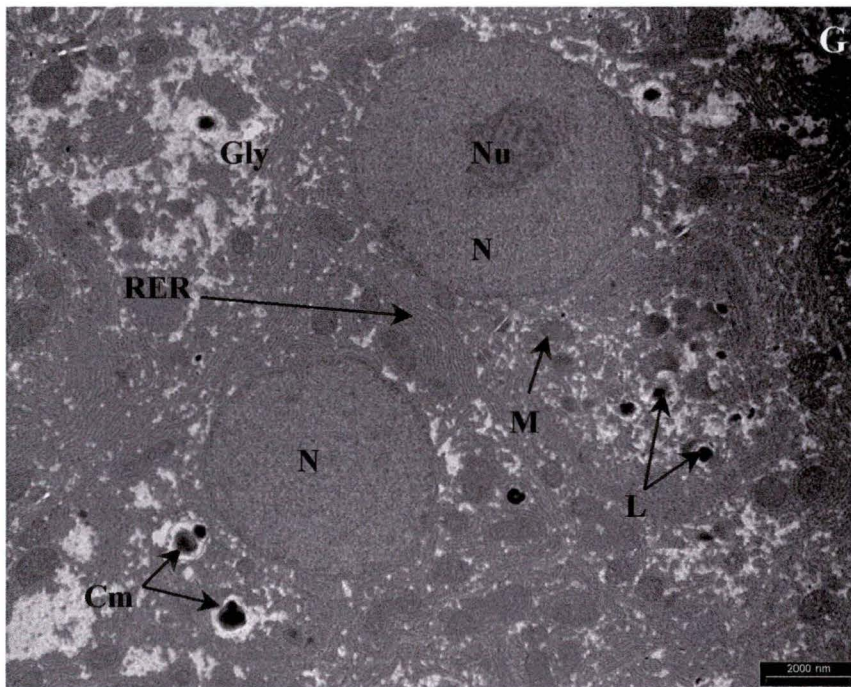


Figure 3.12: Evolution de l'ultrastructure hépatique chez les perches femelles.
 A et B: Perche en repos sexuel au mois d'août (grossissement 4200 x pour la photographie A et 7000 x pour la photographie B).
 C et D: Perche en vitellogenèse exogène au mois d'octobre (grossissement 4200 x).
 E: Perche en vitellogenèse exogène au mois de février (grossissement 4200 x).
 F: Mitochondrie du mois de février (grossissement 20000 x).
 G: Perche en fin de vitellogenèse exogène au mois de mars (grossissement 4200 x).
 H: Perche ayant ovulé au mois d'avril (grossissement 4200 x).

N= noyau, Nu = nucléole, M = mitochondrie, L = lipide, Gly = glycogène, RER = réticulum endoplasmique rugueux, Cm = corps myéloïde.

diminue ensuite. Cependant, dans ce cas, les données ne nous permettent pas de déduire de tendance. Le rapport pour le PUFA (n-6) et l'AA diminue d'octobre à avril, suite à une accumulation de ces acides gras dans les gonades. Enfin, pour le DHA, l'augmentation du rapport, observée d'octobre à février s'explique par une augmentation des teneurs hépatiques. La diminution de février à mars résulte d'une diminution des teneurs hépatiques en DHA. Et enfin, la nouvelle augmentation au mois d'avril s'explique par une élévation des teneurs hépatiques.

4 Microscopie électronique du foie

4.1 Evolution de l'ultrastructure des hépatocytes

4.1.1 Mois d'août

Les figures 3.12 A et B nous montrent des perches femelles du mois d'août. Nous y observons un noyau bien rond, de nombreuses petites mitochondries, ainsi que de très nombreuses inclusions lipidiques de grandes tailles associées à de grandes plages de glycogène. Le RER qui synthétise les protéines n'est pas encore bien développé. Les femelles sont en repos sexuel.

4.1.2 Mois d'octobre, février et mars

L'ensemble de ces micrographies (figures 3.12 C, D, E, F et G) retrace l'évolution de la vitellogenèse exogène depuis son commencement en octobre jusqu'à sa fin, au mois de mars. Ces photographies nous montrent un RER fortement développé et dont la structure est organisée autour du noyau. Noyau qui maintient sa forme ronde et qui, comme dans la période précédente, présente un nucléole bien visible. Les mitochondries sont plus volumineuses et contiennent de nombreux replis internes appelés crêtes (figure 3.12 F). Les plages de glycogène diminuent (surtout à partir du mois de mars). Les inclusions lipidiques sont également plus petites et moins nombreuses.

4.1.3 Mois d'avril

La figure 3.12 H nous montre une femelle du mois d'avril. Le foie présente un RER très dilaté et ayant perdu son aspect ordonné. Les mitochondries sont très volumineuses par rapport à celles de la figure 3.12 A et B (août), certaines présentent un début de dégénérescence. Le glycogène a presque disparu et les inclusions lipidiques sont de petites tailles. Il faut noter qu'à partir du mois de février, nous observons de plus en plus de corps myéloïdes, ceux-ci sont des structures membranaires dégénérées qui témoignent d'une intense activité.

4.2 Les inclusions lipidiques

Pour cette partie de l'étude de l'ultrastructure des hépatocytes, nous nous sommes intéressés à la surface des gouttelettes lipidiques, mais également à leur nombre.

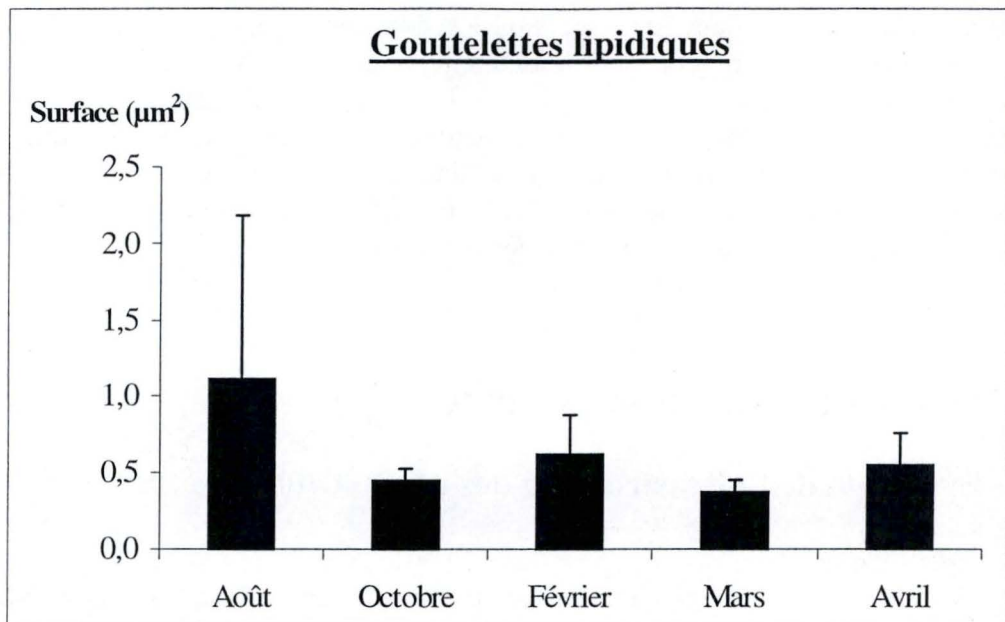


Figure 3.13: Evolution de la surface (en μm^2) des gouttelettes lipidiques dans des hépatocytes de perches femelles tout au long d'un cycle annuel de reproduction, sur une surface de $320 \mu\text{m}^2$. Les barres représentent l'écart-type.

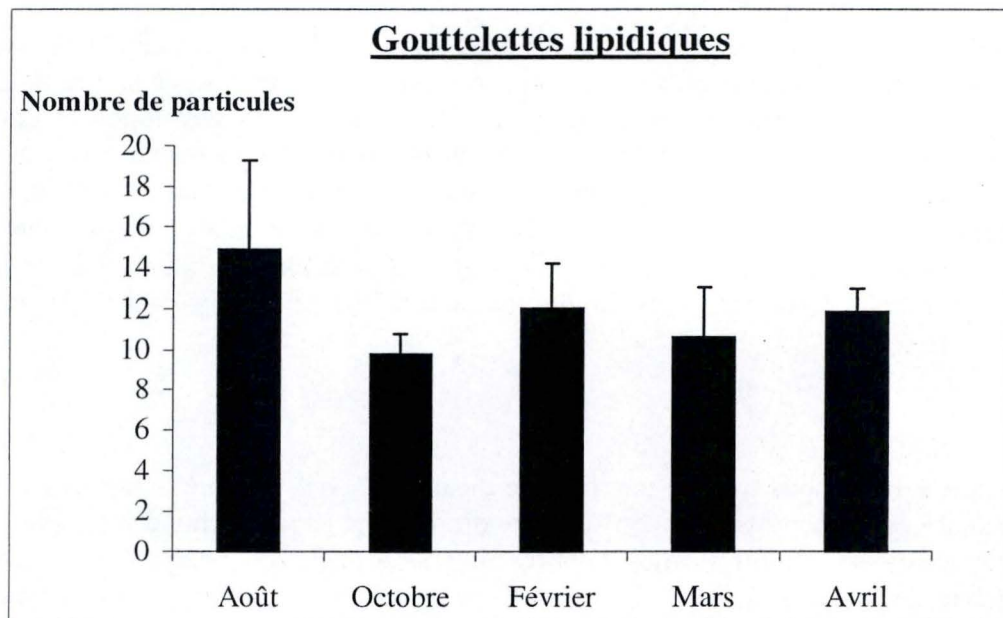


Figure 3.14: Evolution du nombre moyen de gouttelettes lipidiques dans des hépatocytes de perches femelles tout au long d'un cycle annuel de reproduction, sur une surface de $320 \mu\text{m}^2$. Les barres représentent l'écart-type.

4.2.1 Surface des gouttelettes lipidiques

La surface des inclusions (figure 3.13) est relativement importante au mois d'août ($1,11 \mu\text{m}^2$), bien que très variable selon les individus. Elle diminue de manière assez importante au mois d'octobre ($0,45 \mu\text{m}^2$) avant de remonter légèrement au mois de février ($0,62 \mu\text{m}^2$). Une nouvelle diminution est enregistrée au mois de mars ($0,37 \mu\text{m}^2$), alors qu'au mois d'avril, nous revenons à une surface de $0,55 \mu\text{m}^2$. La tendance générale est donc à une diminution de la surface des gouttelettes. En effet, la surface moyenne des gouttelettes varie de manière saisonnière de $0,09 \mu\text{m}^2$ au mois d'août à $0,05 \mu\text{m}^2$ au mois d'avril. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les périodes (annexe 13).

4.2.2 Nombre de gouttelettes lipidiques

Comme dans le cas précédent, nous observons une diminution tout au long du cycle de reproduction, étant donné que nous passons de 15 gouttelettes en moyenne par surface de $320 \mu\text{m}^2$ (une photographie à cette surface) en août à 12 gouttelettes en moyenne au mois d'avril (figure 3.14). Dans ce cas, nous n'avons pas pu mettre en évidence de différences significatives entre les périodes (annexe 13).

4.3 Les inclusions de glycogène

Dans le cas du glycogène, il n'a pas été possible de calculer un nombre de particules étant donné que, contrairement aux lipides qui sont bien définis, le glycogène est très diffus. Nous nous sommes donc intéressés à la surface occupée par celui-ci. Nous présentons à la figure 3.15 la surface moyenne (en %) occupée par le glycogène. Cependant, l'analyse statistique fut menée sur les surfaces réelles (en μm^2).

L'analyse statistique (annexe 13) ne nous a pas permis de mettre en évidence de différences significatives entre août et avril. Cependant, la tendance générale est une diminution de la surface occupée par le glycogène (15 % de la surface au mois d'août et d'octobre contre 7,9 % de la surface au mois d'avril). Il est intéressant de noter que la variabilité est assez importante, ceci peut s'expliquer par le fait que le glycogène se réparti de manière hétérogène au sein des hépatocytes, engendrant de grandes différences. Ainsi, sur certaines de nos photographies, nous avons obtenu d'importantes quantités de glycogène, alors que sur d'autres, aucune inclusion n'a été observée.

4.4 Le réticulum endoplasmique rugueux (RER)

Nous nous sommes intéressés uniquement à la surface de cet organite. Nous présentons à la figure 3.16 la surface moyenne (en μm^2) occupée par le RER. Nous n'avons pas mis en évidence de différences significatives (annexe 13) entre les différentes saisons. Cependant, nous pouvons remarquer une tendance générale à l'augmentation de cet organite au cours du temps. Augmentation assez forte au début, qui se stabilise par la suite. En effet, nous passons d'une surface moyenne de $24 \mu\text{m}^2$ (7 % de la surface) au mois d'août à une surface de $41 \mu\text{m}^2$ (13 % de la surface) au mois d'octobre. Cette forte augmentation se stabilise ensuite pour atteindre une valeur de $45 \mu\text{m}^2$ (14 % de la surface) en mars. On constate une légère diminution de la surface moyenne au mois d'avril ($41 \mu\text{m}^2$ ou 13 % de la surface).

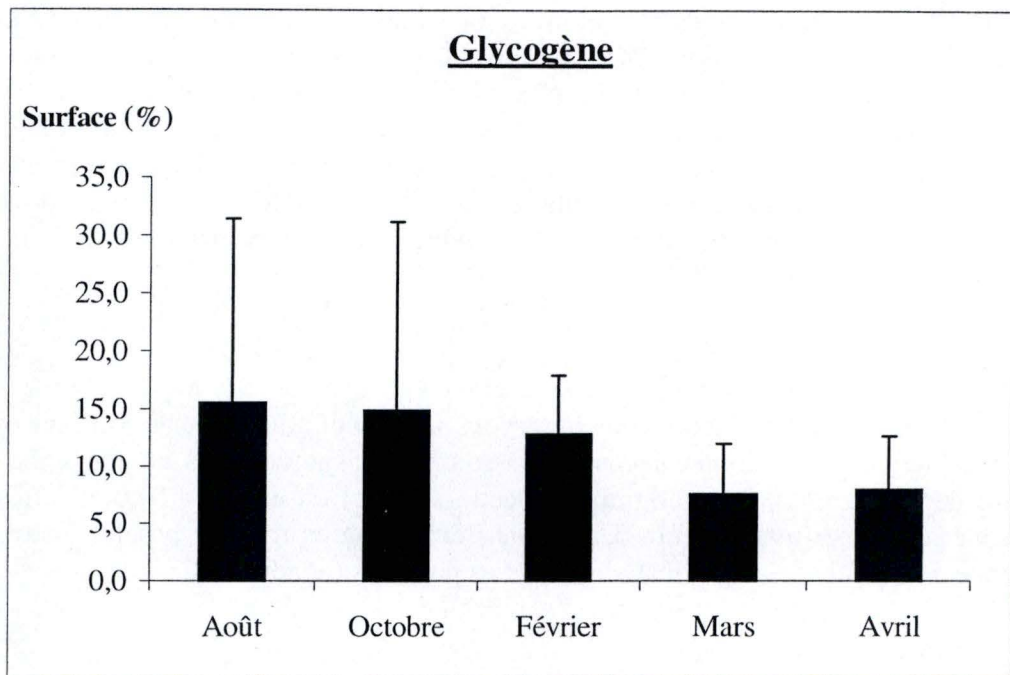


Figure 3.15: Surface moyenne de glycogène (en %) dans des hépatocytes de perches femelles tout au long d'un cycle annuel de reproduction, sur une surface de $320 \mu\text{m}^2$. Les barres représentent l'écart-type.

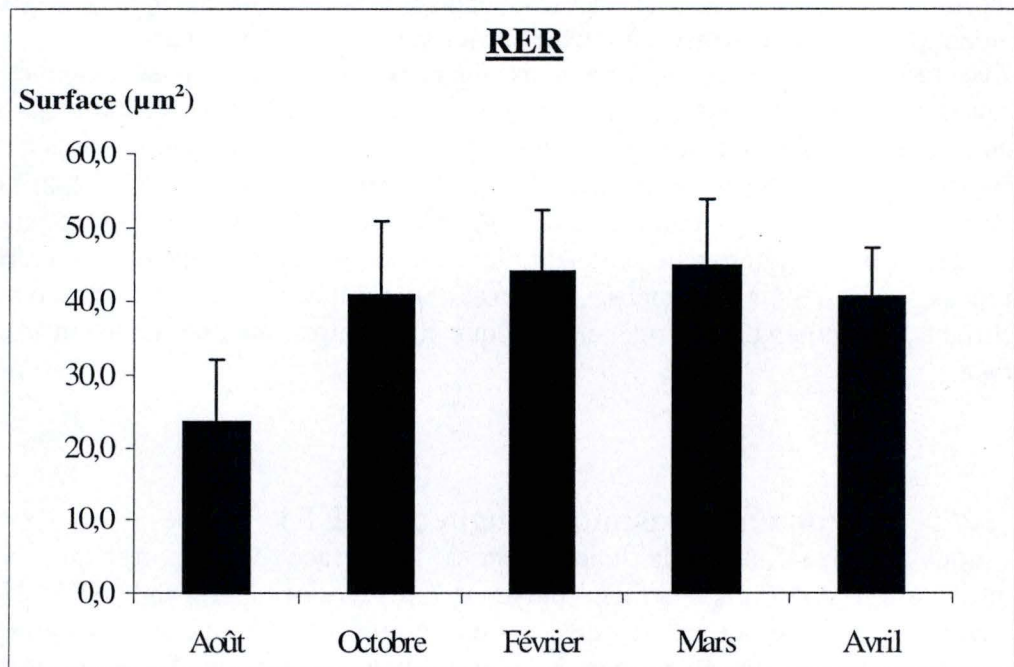


Figure 3.16: Evolution de la surface du RER (en μm^2) dans des hépatocytes de perches femelles tout au long d'un cycle annuel de reproduction, sur une surface de $320 \mu\text{m}^2$. Les barres représentent l'écart-type.

4.5 Les mitochondries

4.5.1 Surface des mitochondries

La figure 3.17 reprend l'évolution des surfaces mitochondriales au cours du cycle reproducteur. La tendance générale est une augmentation des surfaces au cours des saisons ($0,31 \mu\text{m}^2$ au mois d'août à $0,83 \mu\text{m}^2$ au mois d'avril). Cependant, les mitochondries du mois de mars ont une valeur plus faible ($0,45 \mu\text{m}^2$) que celles de février et d'avril. La surface moyenne des mitochondries varie de $0,02 \mu\text{m}^2$ au mois d'août à $0,06 \mu\text{m}^2$ au mois d'avril. Nous avons pu mettre en évidence une différence significative (test de Scheffé, annexe 13) entre le mois d'août et le mois d'avril, mais aucune différence n'est apparue entre août, octobre, février et mars de même qu'entre octobre, février, mars et avril.

4.5.2 Nombre de mitochondries

Au cours du cycle de reproduction, nous constatons une diminution du nombre de mitochondries (18 en moyenne par surface de $320 \mu\text{m}^2$ au mois d'août contre 15 en moyenne au mois d'avril) (figure 3.18). Au mois d'octobre, le nombre moyen de mitochondries est de 10, ensuite, celui-ci augmente légèrement au cours des mois pour atteindre sa valeur d'avril. Nous avons pu mettre en évidence une différence significative entre les mois d'août et d'octobre (test de Scheffé, annexe 13). Aucune autre différence significative n'a pu être mise en évidence.

En première conclusion de ces observations, nous pouvons dire que la surface des organites cellulaires (RER et mitochondries) augmente au cours du cycle annuel. En outre, la surface des réserves énergétiques (lipides et glycogène) et le nombre de gouttelettes lipidiques diminuent d'août à avril.

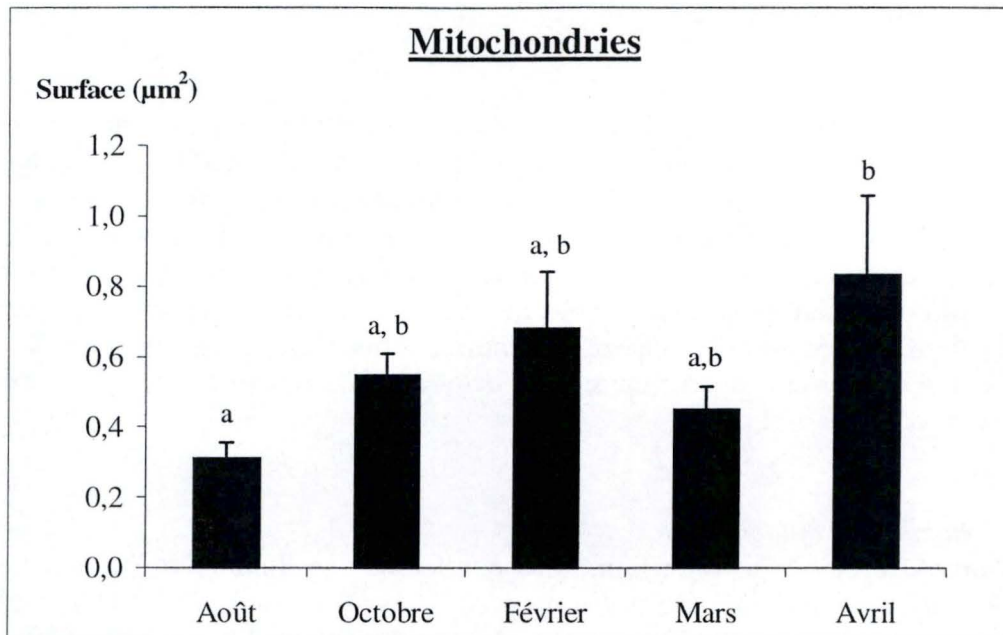


Figure 3.17: Evolution de la surface mitochondriale (en μm^2) dans des hépatocytes de perches femelles tout au long d'un cycle annuel de reproduction, sur une surface de $320 \mu\text{m}^2$. Les barres représentent l'écart-type. Les lettres au-dessus de celui-ci correspondent aux différences significatives ($P < 0,05$).

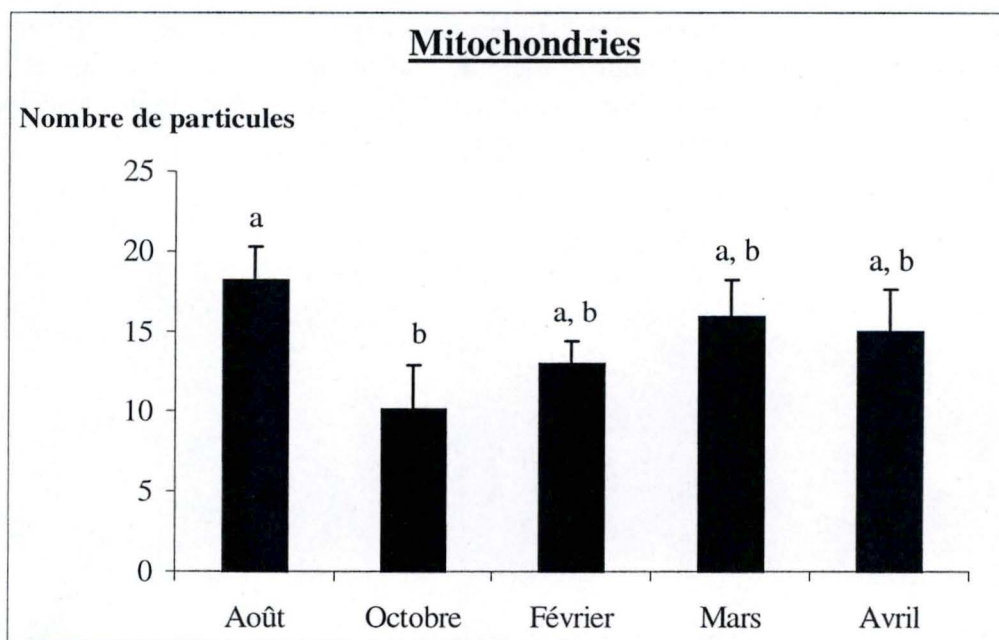


Figure 3.18: Evolution du nombre moyen de mitochondries dans des hépatocytes de perches femelles tout au long d'un cycle annuel de reproduction, sur une surface de $320 \mu\text{m}^2$. Les barres représentent l'écart-type. Les lettres au-dessus de celui-ci correspondent aux différences significatives ($P < 0,05$).

Quatrième partie:

Discussion

1 Les indices morphométriques

Cette première partie va nous permettre, à partir des indices morphométriques (IGS, IHS et ILS) et de l'histologie des gonades, de recentrer notre étude par rapport aux données déjà parues dans la littérature.

Les résultats que nous avons obtenus au fil des saisons nous montrent que chez les femelles du mois d'août, les valeurs d'IGS sont faibles (< à 1%). En effet, à cette période, les perches sont en repos sexuel, elles reconstituent leurs réserves énergétiques, essentiellement au niveau des graisses périviscérales, après une saison de reproduction. Les gonades femelles de début août présentent uniquement des ovocytes protoplasmiques. Sulistyó *et al.* (1998) avaient déjà observé la présence unique de ces ovocytes immatures dans les ovaires de perches. A partir de la mi-août, nous observons dans les gonades, des ovocytes contenant les premières vésicules de vitellus correspondant à l'initiation de la vitellogenèse endogène. Cette observation est en accord avec celle réalisée par Sulistyó *et al.* (1998) selon lequel, le début de la recrudescence ovarienne chez la perche a lieu entre le mois d'août et le mois de septembre. A partir du mois d'octobre, débute chez les femelles la vitellogenèse exogène. Celle-ci se poursuit jusqu'au mois de mars et se marque au niveau des gonades par l'accumulation de globules vitellins. C'est également au cours de cette étape que l'on commence à différencier la thèque et la granulosa. L'observation des coupes en microscopie optique réalisées sur les gonades de femelles capturées à cette période illustre ces constatations (figure 2.6 C, D, E et F). L'accumulation de vitellus engendre une augmentation de l'IGS. Celui-ci augmente lentement jusqu'en février (15 %) et ensuite plus rapidement. Au mois d'avril, la vitellogenèse exogène est terminée et les ovocytes entrent en maturation finale. Dès que cette étape est terminée, les ovocytes sont expulsés dans la lumière ovarienne: c'est l'ovulation. L'observation histologique des gonades du mois d'avril nous montre des ovules. L'IGS atteint sa valeur maximale (28 %) juste avant le frai au mois d'avril. Des résultats similaires ont été observés par Treasurer (1981), Jamet et Desmolles (1994), Sulystio *et al.* (1998). Après la ponte, l'IGS chute et les poissons entrent à nouveau en repos sexuel.

Chez les mâles, la situation est différente. En effet, dans notre étude, l'IGS des mâles passe d'une valeur faible, inférieure à 1 % au mois d'août (les testicules ne contiennent que des spermatogonies), à 7 % au mois de février. L'augmentation de l'IGS est principalement liée à l'apparition de spermatozoïdes dans les testicules. A partir de février et jusqu'au mois d'avril, les mâles sont spermiantes, ce qui se traduit par une diminution de l'IGS au cours des mois de mars et d'avril. Cette diminution pourrait être attribuée à l'émission de sperme durant cette période. Chez la perche, la spermatogenèse progresse rapidement, puisque l'IGS atteint une valeur proche du maximum dès octobre. Cette observation confirme celles de Le Cren (1951) et de Treasurer et Holliday (1981) qui constatent que la spermatogenèse de la perche se déroule en 6 semaines. Pour ces mêmes auteurs, l'IGS maximum des mâles est atteint au mois d'octobre, alors que pour Jamet et Desmolles (1994), c'est au mois de mars (un mois avant la ponte). Pour Sulystio *et al.* (2000) l'IGS maximal des mâles de perche est atteint en septembre (avec 8,5 %), pour diminuer ensuite à 5 % au mois de mars. Les mâles sont spermiantes de janvier à mi-avril. Enfin, selon Migaud (2002), l'IGS maximal (5 %) est atteint en décembre et diminue ensuite. Nos données se rapprochent de celles de Jamet & Desmolles (1994). Les différences observées entre les auteurs concernant le moment d'apparition de l'IGS maximal peuvent être attribuées aux variables environnementales comme la photopériode, la température de l'eau, les conditions trophiques, ou encore le type de confinement des géniteurs en conditions naturelles ou artificielles.

Notons également que l'IGS maximal des femelles est de 28 %, alors que celui des mâles est de 7 %. Cette observation rejoint celles réalisées par Médalle et Guillaume (1999), pour qui le poids des gonades femelles de téléostéens peut atteindre 30 % du poids corporel, tandis que cette valeur dépasse rarement 10 % chez les mâles. Cette différence s'explique par le fait que les femelles stockent dans leurs gonades d'importantes réserves énergétiques pour assurer la survie des larves durant les premiers jours de leur vie. Les mâles, eux, investissent plutôt l'énergie de reproduction dans les caractères sexuels secondaires ou les comportements reproducteurs, que dans la production des gamètes.

L'analyse des IHS réalisée sur nos adultes de perches sauvages nous montre, chez les femelles, une augmentation entre le mois d'août (0,9 %) et le mois de février (1,4 %), ainsi qu'une faible diminution durant les mois de mars et avril (1,2 %). Bien que Sulistyó *et al.* (1998) aient observé la même évolution durant leur étude, l'IHS maximum était de 2 %. Cette valeur plus élevée peut s'expliquer par le fait que les poissons utilisés dans leur expérience ont été stockés en bassin et nourris avec des petits cyprinidés. La disponibilité en aliments est donc garantie, ce qui n'est pas le cas dans notre étude, étant donné que nos perches proviennent de Meuse, où la disponibilité en nourriture est variable en fonction des saisons. L'augmentation d'IHS est liée, en partie, à la synthèse et au stockage de vitellus ainsi qu'à l'augmentation de l'activité enzymatique nécessaire à la vitellogenèse (Medford et Mackay, 1978). Cette activation du métabolisme lipidique entraîne une augmentation des dépôts lipidiques dans le foie. Chez la perche macquarie *Macquaria australasica* Cuvier (1830), le foie serait l'organe principal de stockage qui fournit les éléments nutritifs aux ovocytes (Sheikh-Eldin *et al.*, 1995). Le foie semble jouer un rôle dans le transfert des lipides contenus dans les graisses périviscérales vers l'ovaire et l'augmentation du poids du foie serait en relation avec l'allocation de lipides pour l'ovaire (Henderson *et al.*, 1996). Peu avant la ponte, nous observons une diminution de l'IHS. Sulistyó *et al.* (1998) ont mis en évidence une évolution similaire de l'IHS dans leur étude sur la perche. Cette diminution est principalement due à l'arrêt de stimulation oestrogénique du foie (arrêt de la synthèse protéique par le foie), car les ovocytes sont en maturation finale et n'accumulent donc plus de vitellus (Medford & Mackay, 1978; van Bohemen *et al.*, 1981; Lenhardt, 1992).

Chez les mâles, l'IHS augmente d'août (0,97 %) à octobre (1,1 %). Une diminution s'observe en février (0,9 %), mais au mois de mars, l'IHS atteint sa valeur maximale (1,3 %) et diminue ensuite faiblement au mois d'avril (1,2 %). Pour Sulistyó *et al.*, (2000) l'IHS maximum (1,9 %) est atteint au mois de février et se maintient à cette valeur jusqu'à la ponte. Remarquons que les profils d'évolution de l'IHS dans le temps sont similaires entre mâles et femelles, vu que cet indice reste aux alentours de 1 %. Cette constatation fut également faite par Migaud (2002).

Le dernier indice morphométrique étudié est l'ILS. Notons que de nombreux auteurs étudient l'IVS (ou indice viscérosomatique, c'est-à-dire le rapport du poids des viscères sur le poids corporel, le tout multiplié par 100) et non l'ILS. Ce rapport (IVS) prend donc en compte, non seulement les viscères, mais également les graisses périviscérales. Dans notre cas, nous ne nous sommes intéressés qu'aux graisses périviscérales. Les deux rapports sont néanmoins comparables, étant donné que les viscères n'augmentent pas en poids au cours du cycle de reproduction, sauf si une grande quantité d'aliments est ingurgitée juste avant le calcul de cet indice.

Xu *et al.* (2002) ont observé que la zone de stockage énergétique principale chez la perche se situe autour des viscères. Ces stocks de graisses mésentériques ou périviscérales sont constitués au cours d'une période de nutrition active (juillet et août). C'est à cette période que les valeurs d'IVS sont les plus élevées. Lorsque la recrudescence gonadale reprend (vers la fin de l'été), les dépôts lipidiques périviscéraux diminuent (Makarova, 1973; Kirillov & Akhremenko, 1982; Sulistyó *et al.*, 1998, 2000; Migaud, 2002). Lors de notre étude, une tendance identique s'est marquée, étant donné que l'ILS calculé pour les femelles est de 1,6 % du poids corporel au cours du repos sexuel. Durant la vitellogenèse exogène, nous constatons une forte diminution des graisses périviscérales étant donné que l'ILS atteint 0,7 % au mois de mars. Cette diminution des graisses périviscérales peut être mise en relation avec le développement des gonades (Migaud, 2002). Comme Henderson *et al.* (1996) l'ont mis en évidence, la perche est un "capital breeder", ce qui signifie qu'elle utilise l'énergie stockée à partir de son alimentation pour assurer le développement des gonades. Ces auteurs distinguent la perche d'un autre type de poisson, appelé "income breeder", qui utilise directement l'énergie alimentaire pour assurer le développement des gonades. Enfin, l'ILS des femelles du mois d'avril est de 0,3 %. Cette diminution correspond à la reprise de l'ovogenèse, les réserves périviscérales sont donc utilisées pour assurer les étapes finales du cycle de reproduction, comme l'ont fait remarquer Sulistyó (1998) et Migaud (2002). De même l'ILS des mâles passe de 1 % en août à 0,09 % au mois d'avril. Cette diminution serait liée à l'utilisation des graisses périviscérales comme une source d'énergie durant la période de jeûne hivernal plutôt que comme une source d'énergie pour les gonades. Les perches femelles utilisent essentiellement ces réserves énergétiques pour fournir l'énergie nécessaire au bon déroulement des étapes du cycle de reproduction. Notons également que la période d'alimentation active (juillet-août) précédant la période de reproduction semble capitale au bon développement gonadal.

Dans cette première partie de l'étude, nous nous sommes focalisés sur des indices qui sont généralement calculés dans toutes les expériences faisant référence à la reproduction et à l'élevage des poissons. L'histologie des gonades et le calcul de ces différents indices avaient pour but de déterminer si les perches, prélevées dans le milieu naturel, se développaient correctement par rapport aux données déjà publiées. Les indices qui paraissent être intéressants à prendre en considération dans les expériences à venir sont l'ILS et l'IHS, en effet ceux-ci vont varier avec le taux d'alimentation. Toute administration d'un régime alimentaire va donc avoir un effet sur ces indices. Par contre, l'IGS ne paraît pas intéressant, car en condition d'élevage, l'état de maturité des gonades va dépendre de nombreux paramètres, comme nous l'avons déjà précisé précédemment. Une des failles principales à ce niveau de l'étude résulte dans le faible nombre de mâles échantillonnés à certaines périodes.

2 Contenu en lipides totaux et en acides gras

Les teneurs en lipides hépatiques présentent une diminution du mois d'août (5,5 % du poids du corps) au mois d'avril (2,97 % du poids du corps), que ce soit pour les mâles ou pour les femelles. D'après les résultats obtenus par Ågren *et al.* (1987), les perches, dont les gonades sont matures ont un contenu lipidique hépatique de 3,3 %, ce qui correspond à nos résultats. Au mois de juillet, cette valeur est de 3,4 %. Nous supposons qu'au cours de la période de repos sexuel, cette valeur va augmenter pour

atteindre les 5,5 % de notre expérience. On sait, d'une part, que la perche reconstitue ces stocks énergétiques durant une période de nourrissage estivale (Makarova, 1973) et que d'autre part, elle stocke la majorité des surplus lipidiques dans les graisses périsvérales et en plus faible quantité dans le foie. Comme l'ont montré Sheridan (1988) et Sargent *et al.* (1989), le foie est le principal organe pour le métabolisme lipidique (stockage lipidique, synthèse de lipoprotéine). Celui-ci est susceptible d'influencer la composition lipidique du foie. Les lipides peuvent être transportés du foie vers d'autres organes, pour y subir, par exemple, des processus de β -oxydation des acides gras constitutifs de ces lipides, ce qui fournit de l'énergie (Sheridan, 1988; Gurr & Harwood, 1991). Le contenu et la composition en lipide du foie peuvent non seulement varier avec le métabolisme, mais aussi avec l'alimentation. Cette hypothèse nous permet de comprendre qu'au cours de l'été, lorsque la nourriture est abondante, le contenu en lipide hépatique augmente, alors que, durant les périodes hivernales, lorsque la disponibilité en aliments est faible, celui-ci diminue. Les variations du contenu en lipides totaux hépatiques ne sont donc pas entièrement liées au cycle de reproduction, mais également aux variations trophiques du milieu, comme Heidinger & Crawford (1977) l'ont mis en évidence chez le black-bass à grande bouche. La gonadogenèse se déroule durant les mois d'automne et d'hiver, période durant laquelle la nourriture se fait rare. Etant donné que le foie intervient dans la synthèse de la vitellogénine, nous aurions pu observer une différence entre les mâles et les femelles. Or, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence. Cette observation conforte l'idée précédente, à savoir que la teneur lipidique serait influencée par la disponibilité en aliments dans le milieu.

Lorsque nous nous intéressons à la quantité de lipide hépatique par gramme de poids corporel, nous constatons un pic important chez les femelles au mois d'octobre. Ce pic pourrait être lié à l'initiation de la vitellogenèse exogène car, comme nous l'avons mentionné précédemment, l'activation du métabolisme lipidique entraînerait une augmentation des dépôts lipidiques dans le foie. Après le mois d'octobre, une diminution des teneurs en lipides totaux s'amorce. Cette diminution peut-être attribuée soit au manque de nourriture dans le milieu naturel, soit à l'utilisation des réserves lors de la vitellogenèse exogène, soit à la conjonction de ces deux facteurs. Chez les mâles, la diminution semble essentiellement liée aux conditions trophiques du milieu.

Au niveau des gonades femelles, lorsque nous analysons le pourcentage lipidique par gramme de poids corporel, nous constatons une augmentation d'octobre (0,41 %) à mars (1,02 %). Cette augmentation se produit durant les mois de vitellogenèse exogène. Celle-ci se caractérise par l'accumulation de vitellus qui est constitué de deux protéines vitellines, résultant du clivage de la vitellogénine (une lipoglycophosphoprotéine). Etant donné qu'une partie de ce vitellus est constitué de lipides, il est donc logique d'observer une augmentation des teneurs en lipides dans les gonades. De nombreux auteurs ont suggéré la vitellogénine comme principale source de lipides pour les ovocytes de téléostéens en croissance (Wallace, 1985; Frémont & Riazi, 1988; Mommsen & Walsh, 1988). Par contre, au mois d'avril, nous observons une chute des teneurs à 0,63 %. Nous n'expliquons pas cette brusque diminution du contenu lipidique, celle-ci pourrait être due à une atresie folliculaire suite au manque de nourriture dans le milieu (Bromage *et al.*, 1992; Kjorsvik *et al.*, 1990), mais il n'en n'est rien, car l'histologie des gonades nous montre des ovules. Nous pouvons également constater que la variabilité est importante et qu'elle s'inscrit dans une tendance à l'augmentation. Un échantillonnage plus important aurait peut-être permis d'éviter cette valeur basse.

Chez les mâles, les teneurs lipidiques dans les gonades se situent entre 0,1 % et 0,2 %. Nous avons pu mettre en évidence une différence hautement significative ($P < 0,01$) au niveau du contenu lipidique dans les gonades entre les mâles et les femelles. Cette observation est logique étant donné que, chez les femelles, les ovocytes contiennent les réserves énergétiques nécessaires à la survie des larves jusqu'au moment où elles seront aptes à se procurer une alimentation exogène (Wallace, 1985). Les gonades femelles contiennent donc les réserves énergétiques nécessaires au bon développement des jeunes individus.

La diminution du rapport foie/gonade chez les femelles met en évidence un transfert de lipide du foie vers les gonades. Ces lipides se retrouvant, comme nous l'avons mentionné précédemment, dans la vitellogénine. Chez les mâles, ce rapport évolue de manière différente. Dans ce cas, les teneurs en lipides dans les gonades restent constantes. Il semblerait que la diminution du rapport d'octobre à février soit due à une diminution du contenu en lipides hépatiques. De même, l'augmentation des lipides dans le foie à partir de mars entraîne une augmentation de ce rapport. Il ne semble donc pas y avoir, chez les mâles, de transfert de lipides du foie vers les gonades.

Les teneurs en lipides totaux musculaires obtenues lors de notre étude se situent entre 0,6 % (au mois d'août) et 0,9 % (au mois d'octobre, mars et avril) aussi bien chez les mâles que chez les femelles. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus chez la perche par Ågren *et al.* (1987). En effet, ces auteurs ont déterminé que la composition musculaire en lipides totaux varie entre 0,5 % (au mois de juillet) et 0,8 % (au mois de mars). Ces résultats confirment donc l'hypothèse selon laquelle la perche est un "poisson maigre" (Ackman, 1995; Kestemont *et al.*, 2001b; Mathis *et al.*, 2002), comparé à d'autres espèces tels le maquereau, le hareng ou l'anguille qui sont des "poissons gras" (lipides musculaires supérieures à 10 %), ou encore la truite arc-en-ciel et la daurade royale, poissons "intermédiaires", dont la stratégie de stockage des graisses est toute différente. Cette observation est confirmée par le fait qu'au cours de la saison de reproduction, aucune diminution notable des teneurs en lipides musculaires n'est observée dans notre expérience. Nous pouvons donc conclure et confirmer que chez la perche, le transfert des réserves énergétiques musculaires vers les gonades est faible. Notre conclusion rejoint ici celle formulée par Sulistyo (1998). Il faut néanmoins constater que les muscles des mois d'août et de février ont des teneurs en lipides totaux plus faibles que les autres mois. D'après Ågren *et al.* (1987), on constate une légère diminution des teneurs en lipides totaux musculaires de mars à juillet. Dans notre cas, la faible teneur observée au mois d'août peut donc être expliquée par une utilisation des lipides entre avril et août. Les stocks lipidiques sont ensuite reconstitués. Il se pourrait donc que, chez la perche, le peu de lipides stockés au niveau des muscles soit mobilisé en cas de besoins pour la reproduction ou d'autres besoins énergétiques. La valeur du mois de février est, quant à elle, significativement différente de mars. Actuellement, aucune raison ne permet d'expliquer ce résultat. Il se pourrait que cette valeur soit liée au faible nombre d'individus capturés dans cette partie de l'expérience. Une autre hypothèse serait que la disponibilité d'aliments dans le milieu étant faible durant cette période hivernale et les réserves corporelles (graisses périviscérales et stocks hépatiques) étant utilisées pour la gonadogenèse, les réserves énergétiques musculaires sont utilisées pour les besoins énergétiques.

Dans cette seconde partie, nous nous sommes intéressés aux contenus lipidiques dans trois organes (le foie, les gonades et les muscles). Un des problèmes majeurs se situe au niveau du faible nombre d'individus utilisés.

Il ne semble pas nécessaire de s'attarder sur la composition biochimique des muscles, étant donné que le peu de réserves que l'on y trouve n'est mobilisé que très faiblement, voire pas du tout. Par contre, il aurait été intéressant d'étudier la composition lipidique des graisses périviscérales qui représentent la zone de stockage énergétique principale. Il aurait également été utile de s'attarder sur les différents groupes de lipides (phospholipides, triglycérides) présents dans ces divers tissus, étant donné qu'ils ont des fonctions bien différentes.

Nous allons maintenant nous intéresser à la composition en acides gras. Les teneurs en acides gras musculaires diffèrent peu entre mâles et femelles. En effet, dans les deux cas, les acides gras saturés représentent environ 20 % du contenu total en acide gras. Au niveau des acides gras monoinsaturés musculaires, nous remarquons une diminution en fonction des mois, parmi les deux sexes. Cependant, chez les femelles de février, nous observons un pic d'acides gras monoinsaturés qui atteint 31 %. Dans le foie, la même tendance que dans les muscles se marque, à savoir une faible différence dans le contenu en acides gras saturés entre mâles (entre 25,2 % et 29,7 %) et femelles (24,2 % et 29,2 %). Dans les deux cas, une légère diminution des teneurs hépatiques en acides gras saturés se remarque au cours du cycle de reproduction. Comme dans le cas des muscles, nous constatons pour les acides gras monoinsaturés hépatiques, une diminution tant chez les mâles (29,9 % au mois d'août à 13,6 % au mois d'avril) que chez les femelles (25,5 % en août à 15,0 % en avril), et comme dans le cas des acides gras saturés musculaires, nous observons dans le foie des femelles de février, un pic d'acides gras monoinsaturés (21,2 %). On pourrait peut-être expliquer ces teneurs élevées et stables en acides gras saturés et monoinsaturés dans les deux sexes, de la manière suivante. Comme Gurr et Harwood (1991) l'ont démontré, il manque aux téléostéens d'eau douce deux enzymes (les $\Delta 12$ et $\Delta 15$ désaturases) permettant la transformation du C18:1 (n-9) en C18:2 (n-6) et C18:3 (n-3). Les poissons ne peuvent donc pas synthétiser des PUFA, à partir des acides gras saturés synthétisés *de novo* et à partir des acides gras saturés et monoinsaturés apportés par l'alimentation. Ceci expliquerait les teneurs élevées et relativement stables de ces acides gras chez les perches.

Dans les gonades, la quantité d'acides gras saturés est plus importante chez les mâles (entre 22,4 et 28,9 %) que chez les femelles (entre 12,2 et 16,6%). Quant aux acides gras monoinsaturés, ils augmentent au cours du cycle de reproduction des femelles, mais chez les mâles, ils diminuent jusqu'au mois de mars avant de remonter en avril. Les teneurs en ces divers acides gras correspondent à celles mesurées par Ågren *et al.* (1987) dans leur expérience sur la perche. Comme Xu et Kestemont (2002) l'ont montré, il semblerait que les acides gras à courtes chaînes soient utilisés préférentiellement pour fournir l'énergie nécessaire aux besoins d'entretien, ce qui va permettre aux PUFA d'être utilisés pour le maintien de la fluidité membranaire à basse température, pour les processus de croissance et comme précurseur de composés ayant des rôles physiologiques importants, comme nous le verrons plus loin.

En ce qui concerne les PUFA, on peut remarquer tant chez les mâles que chez les femelles, que ceux de la famille (n-3) sont en concentration plus importante que ceux de la famille (n-6) et ce dans les trois organes (muscles, foies et gonades). Observation qui correspond à celle de Bell *et al.* (1986), selon laquelle les poissons

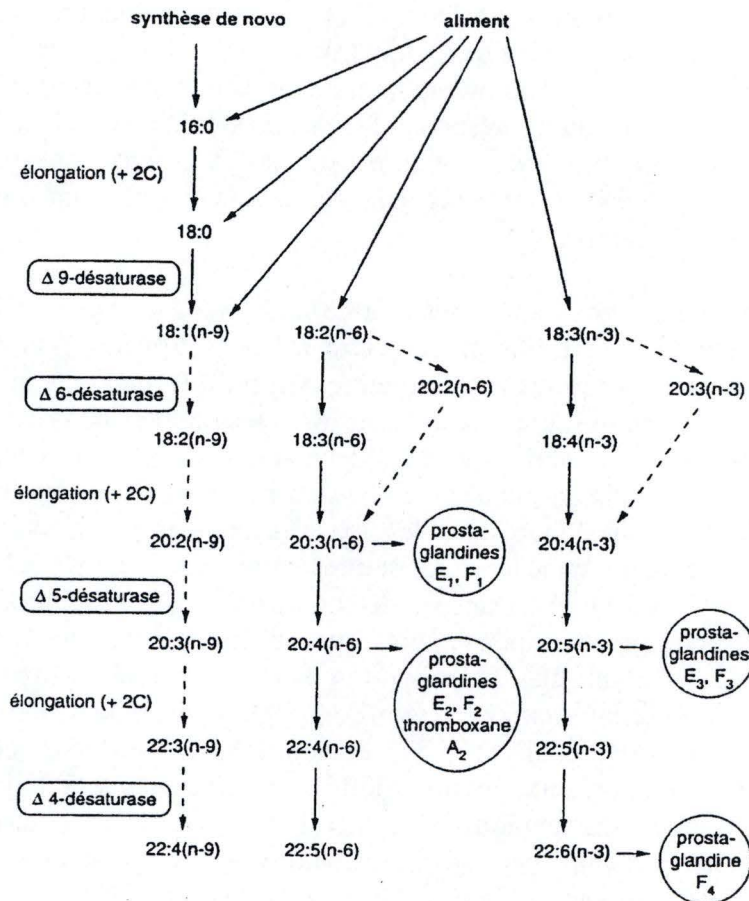


Figure 4.1: Schéma des principales voies de bioconversion des acides gras et de la synthèse de prostaglandines (d'après Bell *et al.*, 1986). — :voies principales, -----: voies mineures. Série (n-9): transformation se produisant chez les poissons d'eau douce, en cas de carence en acides gras essentiels.

d'eau froide ont des besoins plus importants en PUFA (n-3) qu'en PUFA (n-6). Ågren *et al.* (1987) observèrent aussi des teneurs en PUFA (n-3) supérieures en PUFA (n-6), dans leur étude sur la perche.

Les teneurs musculaires en C18:2 (n-6), les teneurs hépatiques en C18:2 (n-6) et en C18:3 (n-3) diminuent au cours de la saison de reproduction, alors que, dans les gonades, nous observons une augmentation de ces deux acides gras. Il y aurait donc transfert de ces acides gras vers les organes reproducteurs. Ce qui est effectivement mis en évidence par le rapport foie/gonades. Les gonades pourraient donc peut-être synthétiser des PUFA (n-3) et (n-6) à longues chaînes, dont certains tels l'EPA ou le DHA sont indispensables au bon développement larvaire. Comme nous l'avons déjà mentionné, l'acide linoléique C18:2 (n-6) et l'acide linoléique C18:3 (n-3) sont les deux acides gras essentiels pour les téléostéens d'eau douce ainsi que pour les mammifères, étant donné que ceux-ci n'ont pas la capacité de les synthétiser *de novo* (voir synthèse bibliographique et figure 4.1). Ces deux acides gras servent de substrat aux enzymes d'élongation/désaturation ($\Delta 5$ désaturase et $\Delta 6$ désaturase). Ainsi, à partir de l'acide linoléique, la majorité des poissons d'eau douce vont pouvoir synthétiser des PUFA (n-3) à longues chaînes (DHA, EPA) et à partir de l'acide linoléique, des PUFA (n-6) à longues chaînes (AA). Le fait que nous observons moins de C18:3 (n-3) que de C18:2 (n-6), dans les tissus (foie, gonades et muscles) de perches, semble s'expliquer par une capacité d'élongation et de désaturation préférentielle de cet acide gras (C18:3 (n-3)) en PUFA (n-3) à longues chaînes. Hypothèse qui est confirmée par les teneurs plus élevées en PUFA (n-3) qu'en PUFA (n-6). Cette capacité d'élongation et de désaturation chez la perche est en accord avec l'étude menée sur ce même téléostéen par Xu et Kestemont (2002). Ces auteurs ont nourri des perches avec différents régimes alimentaires dont la composition en acides gras était connue. Ils constatèrent des concentrations en PUFA (n-3) à longues chaînes plus importantes avec un régime contenant du C18:3 (n-3) qu'avec un régime contenant essentiellement du C18:2 (n-6). Ceci témoignant d'une capacité d'élongation/ désaturation.

En ce qui concerne l'analyse de l'AA, qui, pour rappel, est essentiel notamment dans sa fonction de précurseur d'éicosanoïdes (prostaglandines, thromboxanes, leucotriènes), il reste constant (6 %) dans les gonades femelles, alors que, chez les mâles, il augmente de 8,9 % au mois d'août à 13,2 % au mois d'avril. L'AA est un précurseur de prostaglandines (molécules biologiquement actives qui agissent principalement sur les fonctions de reproductions chez les téléostéens) (Stacey & Goetz, 1982). Cet acide gras est un précurseur de la $PGF_{2\alpha}$, une prostaglandine synthétisée par les mâles qui joue un rôle de phéromone sexuelle, en stimulant l'ovulation et en déclenchant le comportement sexuel chez les femelles (Stacey & Goetz, 1982; Sorensen & Goetz, 1993). Les prostaglandines ont été identifiées dans les testicules du thon rouge du nord et chez le flet *Platichthys flesus* L., par Nomura *et al.* (1973). Il semble donc logique d'observer une augmentation d'AA dans les gonades mâles à l'approche du frai au mois d'avril. En effet, au plus cet acide gras est présent, au plus la quantité de prostaglandine synthétisée par le mâle sera importante et cela stimulera donc la femelle à pondre au moment opportun. Le rapport foie/gonades des concentrations en AA diminue chez les mâles suite à l'accumulation de cet acide gras dans les gonades.

En ce qui concerne la concentration d'EPA dans les muscles, la différence significative observée entre les sexes semble pouvoir s'expliquer par le fait que cet

acide gras est converti en DHA, comme nous le verrons par après. En effet les concentrations en DHA musculaires des mâles sont supérieures à celles des femelles. Au niveau du foie, les teneurs en EPA sont similaires entre mâles et femelles et suivent la même tendance, à savoir une augmentation jusqu'en février et ensuite une diminution jusqu'en avril. En ce qui concerne la concentration d'EPA dans les gonades, l'augmentation, au cours des mois chez les mâles, semble pouvoir s'expliquer par le fait que l'EPA, comme l'AA, est un précurseur d'éicosanoïdes et notamment de prostaglandines. La même explication que pour l'AA peut donc être apportée pour expliquer les variations de teneur en EPA dans les gonades. Les concentrations en EPA dans les gonades femelles restent stables. Le rapport foie/gonades évolue de manière similaire dans les deux sexes, mais alors que chez les mâles, nous pouvons constater un transfert d'EPA du foie vers les gonades, chez les femelles, il ne semble pas y avoir de transfert entre ces deux organes, étant donné que les concentrations hépatiques diminuent, mais celles des gonades ne varient pas. Les teneurs en EPA observées dans cette étude sont en accord avec l'étude d'Ågren *et al.* (1987). Elles sont relativement faibles et semblent résulter de la bioconversion en DHA (Xu et Kestemont, 2002).

Il faut tout d'abord constater que les concentrations en DHA, C22:6 (n-3), sont particulièrement élevées, en comparaison à d'autres espèces. En effet, si l'on compare les teneurs en DHA musculaire (Corraze, 1999), le bar contient 3,7 %, le turbot 11,2 % et la carpe 5,1 %, nos perches ont, quant à elles, une teneur musculaire moyenne de 26,9 %. Nous avons observé que les teneurs en DHA musculaires et hépatiques augmentent tout au long du cycle de reproduction, tant chez les mâles que chez les femelles. Ceci résulte sans doute de la bioconversion de l'EPA, C20:5 (n-3). Cette bioconversion consiste en la transformation de l'EPA, produit par élongation et désaturation à partir de C18:3 (n-3), en DHA. Pour certains auteurs, cette conversion se déroule comme nous pouvons le voir sur la figure 4.1, à savoir, l'ajout de deux atomes de carbone, suivi par l'ajout, sous l'action d'une $\Delta 4$ désaturase, d'une nouvelle double liaison. Mais depuis quelques années, l'existence de cette désaturase a été critiquée, et une autre voie plus probable a été proposée par Voss *et al.* (1991). Ces derniers proposent que le C22:5 (n-3) soit allongé en C24:5 (n-3) pour être ensuite désaturé en C24:6 (n-3) par la $\Delta 6$ désaturase. Ce composé à 24 atomes de carbone est ensuite raccourci par un processus de β -oxydation au niveau des peroxysomes (voir le point 3.2.3.2 et la figure 1.7 dans la synthèse bibliographique).

Par contre, dans les gonades mâles, le DHA augmente jusqu'en février (35,0 %), puis diminue jusqu'en avril (30,2 %). L'accumulation de DHA dans les gonades mâles cesse à partir du moment où ceux-ci sont matures, ce qui correspond au mois de février, si l'on se rapporte à l'histologie des gonades. Le DHA pourrait jouer chez les téléostéens, comme chez les êtres humains, un rôle sur la motilité des spermatozoïdes et la densité du sperme (Nissen & Kreysel, 1983). Au niveau des gonades femelles, les concentrations sont moins importantes que chez les mâles. Nous remarquons une augmentation d'octobre (19,0 %) à mars (25,2 %). Tout comme chez les mâles, la diminution des teneurs en DHA chez les femelles se marque au mois d'avril. C'est-à-dire au moment où l'accumulation de vitellus est terminée et où nous observons des ovules dans les ovaires de perches. Le DHA se retrouve en forte concentration dans les gonades, car il s'agit d'un des acides gras les plus importants dans le développement des tissus nerveux des larves, comme nous allons le voir par après. A noter que les teneurs en DHA que nous avons obtenues sont en accord avec celles constatées par Ågren *et al.* (1987).

Plusieurs expériences ont montré que chez les téléostéens, un déficit en acides gras (n-3) et plus particulièrement en EPA et DHA induisait des taux de malformations importants ainsi que des mortalités plus importantes (Moodie *et al.*, 1989; Sargent, 1995). En effet, ces acides gras, outre leur rôle énergétique, jouent un rôle dans la composition des phospholipides membranaires des cellules, essentiellement des cellules nerveuses. Le DHA est un constituant des tissus nerveux, eux-mêmes abondants dans la rétine ou le cerveau (Bell & Dick, 1991). Un déficit en DHA dans les tissus nerveux peut modifier la capacité de perception visuelle dans un environnement de faible intensité lumineuse, comme ce fut mis en évidence chez le hareng juvénile par Bell *et al.* (1995). Evidemment, une diminution de la perception visuelle, pour des poissons qui chassent à vue, représente un handicap. Ils attrapent moins de proies, ce qui affecte évidemment le taux de croissance et la survie de ces jeunes individus. L'EPA, tout comme l'AA, interviennent dans la formation d'écicosanoïdes, qui agissent au niveau du système digestif, circulatoire, immunitaire et reproducteur. Il est donc extrêmement important que les oeufs contiennent ces nutriments (AA, EPA, DHA) en quantité adéquate pour assurer la croissance et le développement des larves jusqu'à leur premier nourrissage et à la mise en place des voies de bioconversion des acides gras essentiels. Ainsi, chez la perche, lors de l'éclosion, le DHA constitue 11,7 % des acides gras compris dans les triglycérides (Tamazouzt, 1995). Par contre, dans notre expérience, nous atteignons au mois d'avril, 24,7 % de DHA. Mais cette valeur représente le contenu de DHA dans les lipides totaux et non dans les triglycérides (une famille de lipides), comme c'est le cas chez Tamazouzt (1995). Comme nous l'avons mentionné précédemment, il aurait été intéressant de quantifier les différentes familles de lipides, de même que leur composition en acides gras.

Ce qui est essentiel, c'est non seulement les teneurs en EPA et DHA, mais aussi le rapport DHA/EPA, étant donné qu'il rend compte de la proportion des constituants des membranes cellulaires, des tissus nerveux et des précurseurs de prostaglandines (Bell *et al.*, 1986). Les valeurs que nous avons obtenues au niveau du foie et des filets sont assez élevées et presque similaires à celles trouvées par Xu *et al.* (2002) (6,9 % à 8,5 %), dans une expérience de nutrition où le ratio DHA/EPA de l'aliment était proche de 1. Dans l'expérience de Xu *et al.* (2002), l'augmentation du rapport DHA/EPA entre l'aliment et les tissus résulte de la conversion du C20:5 (n-3) en C22:6 (n-3). Le fait que, dans notre expérience, nous trouvons chez des perches sauvages des ratios similaires à ceux de Xu *et al.* (2002) chez des perches nourries, nous laisse supposer, la bioconversion de l'EPA en DHA. D'autre part, les teneurs en DHA plus élevées que celles en EPA dans les tissus de la perche renforcent cette hypothèse de bioconversion.

Les acides gras les plus abondants rencontrés dans les tissus musculaires sont le C16:0, le C18:1 (n-9) ainsi que le DHA. Ces résultats concordent avec ceux d'Ågren *et al.* (1987) ainsi que ceux de Xu et Kestemont (2002). Dans le foie, les acides gras les plus abondants sont le C16:0 et le DHA, ce qui correspond aux résultats de Xu et Kestemont (2002), mis à part que ces auteurs avaient également trouvé du C18:1 (n-9) au niveau du foie. Le fait que nous ne trouvons pas de C18:1 (n-9) dans les foies de perches sauvages peut sans doute être expliqué par un problème de mélange apparu lors de la première étape de la préparation des FAME, soit l'accélération du catabolisme des acides gras, l'absence de cet acide gras pouvant être liée à une mauvaise estérification.

La présence d'une grande quantité d'acides gras saturés (C16:0 ou acide palmitique) dans le foie, s'expliquerait peut-être par la capacité de synthétiser *de novo* ces acides gras. Cette synthèse se déroule essentiellement au niveau du foie, cependant, elle se rencontre également dans de nombreux organes tels que le cœur, les ovaires ou encore les muscles (Robinson & Mead, 1973; Aster & Moon, 1981; Bailey & Driedzic, 1993; Pelster *et al.*, 1997), ce qui expliquerait peut-être pourquoi nous retrouvons le C16:0 à si forte concentration, dans les muscles et les gonades. La synthèse *de novo* produit des acides gras saturés d'une longueur de 12 à 18 carbones, comme Wilson et Williamson (1970) l'ont montrée chez la plie. Les importantes teneurs hépatiques en acide palmitique sont très certainement liées à cette synthèse endogène, mais il faut également tenir compte de l'apport de cet acide gras par l'alimentation. En effet, nous avons précisé précédemment que les teneurs hépatiques en lipides étaient influencées par les conditions trophiques du milieu.

Les valeurs élevées en C18:1 (n-9) dans les muscles résultent de l'élongation du C16:0 en C18:0 et de la désaturation de celui-ci par une $\Delta 9$ désaturase en C18:1 (n-9). Comme nous le montre la figure 4.1, cet acide gras peut être converti par une $\Delta 6$ désaturase en PUFA (n-9) si les acides gras essentiels (C18:2 (n-6) et C18:3 (n-3)) font défaut. En revanche, dans notre cas, ces acides gras sont présents dans le milieu. La $\Delta 6$ désaturase utilise donc ceux-ci comme substrat plutôt que le C18:1 (n-9), ce qui mène à son accumulation.

Enfin, pour les deux sexes, nous observons des teneurs élevées en DHA que ce soit dans les muscles ou dans le foie, variant respectivement de 22,4 à 31,0 % et de 26,5 à 43,9 %. Ces teneurs élevées sont généralement attribuées au processus d'élongation et de désaturation, via l'action des $\Delta 6$ désaturases et $\Delta 5$ désaturases sur le C18:3 (n-3) ainsi qu'à celui de la bioconversion de l'EPA, qui a été expliqué précédemment dans ce chapitre. Une étude récente, menée par Xu et Kestemont (2002) sur la nutrition de la perche, suggère également l'action de ces désaturases pour expliquer les concentrations élevées en DHA dans les tissus, parallèlement à des taux faibles d'EPA.

Enfin, dans les gonades, le C16:0, le C18:1 (n-9) et le DHA sont les acides gras prédominants. Il faut cependant ajouter que leurs concentrations sont toujours supérieures dans les testicules par rapport aux ovaires. Nous n'avons, pour le moment, aucune explication plausible pour justifier la présence de ces acides gras en grande quantité dans les gonades, ni pourquoi, ils sont plus importants chez les mâles que chez les femelles.

Il est également intéressant de constater la présence, dans les muscles des deux sexes et dans les gonades femelles, d'acides gras dont la chaîne carbonée est supérieure à 22 atomes de carbone. Il pourrait s'agir de C24:5 (n-3) ou de C24:6 (n-3), deux acides gras que l'on rencontre dans la voie métabolique menant au DHA, comme Voss *et al.* (1991) l'ont proposé. Cependant, dans notre étude, nous ne sommes pas certains d'être en présence de ces acides gras, car, nous ne disposons pas des standards adéquats. Quoi qu'il en soit, la présence de composés à plus de 22 atomes de carbone renforce l'hypothèse de Voss *et al.* (1991) selon laquelle la $\Delta 4$ désaturase n'existerait pas.

Il aurait été intéressant de connaître la composition en acides gras, des graisses périscérales, de manière à déterminer leur impact sur la composition des gonades.

3 Ultrastructure hépatique

Cette étude nous a finalement amenés à nous pencher sur l'ultrastructure des foies de perches adultes. En nous focalisant uniquement sur les femelles, nous avons tenté de quantifier les stocks énergétiques ainsi que certains organites, tels que le RER ou les mitochondries. Ces organites présentent des modifications au cours du cycle annuel, étant donné qu'ils interviennent de près ou de loin dans la synthèse des substances nutritives qui seront stockées dans les ovocytes. De nos jours, peu d'études se sont focalisées sur ces structures afin de mieux comprendre le métabolisme lipidique des organismes sauvages. La majorité des références sont relatives à l'étude ultrastructurale d'animaux exposés à des substances toxiques (Braunbeck *et al.*, 1989; Braunbeck *et al.*, 1990; Braunbeck, 1993; Arnold *et al.*, 1995). Cette étude de l'ultrastructure hépatique va apporter un nouvel éclairage aux éléments discutés auparavant. Nous avons observé que le nombre moyen d'inclusions lipidiques diminue de manière non significative d'août à avril. La surface de ces inclusions varie de manière importante, mais reste toujours non significative. En effet, au mois d'août la surface moyenne des gouttelettes lipidiques est de $0,09 \mu\text{m}^2$ alors qu'elle n'est plus que de $0,05 \mu\text{m}^2$ au mois d'avril. Nous pourrions expliquer cela par l'action de la vitellogenèse exogène qui nécessite une grande quantité de lipides. En effet, la vitellogenèse exogène qui débute au mois d'octobre, consiste en la synthèse de vitellogénine, une lipoglycophosphoprotéine, ce qui nécessite la présence de protéines, de lipides et de glucose. Cette synthèse protéique est sous stimulation oestrogénique: le 17β -oestradiol, synthétisé par les cellules folliculaires des ovocytes, se lie à un récepteur, au niveau des hépatocytes. Ce complexe oestradiol-récepteur agit sur le gène de la vitellogénine, ce qui provoque une augmentation de la synthèse d'ARNm et donc de vitellogénine (Maître *et al.*, 1985; Mommsen & Walsh, 1988). Celle-ci est synthétisée par le RER avant de subir des transformations (lipidation, glycolisation et phosphorylation) au niveau de l'appareil de Golgi. Une fois synthétisée et transformée, la vitellogénine est excrétée, via des vésicules de sécrétion, dans la circulation sanguine. Au fur et à mesure que les saisons avancent, la vitellogenèse progresse et les réserves énergétiques s'épuisent, ce qui se traduit principalement par une diminution de la taille des gouttelettes lipidiques. On observe également une diminution des teneurs en lipides totaux dans le foie, ainsi que de certains acides gras à partir du mois de février (EPA et C18:2 (n-6)).

En ce qui concerne l'étude des réserves énergétiques, un autre type d'inclusion a attiré notre attention: le glycogène. Comme dans le cas des lipides, une diminution de la teneur en glycogène se marque au cours du cycle reproducteur. Cette diminution est faible au début, étant donné qu'au mois d'août et d'octobre, nous avoisinons les 15 % et les 13 %, en février. Ce n'est qu'à partir de mars que la diminution s'accélère.

Au cours de la période de repos sexuel, le foie régénère ses stocks énergétiques, suite au retour des conditions favorables à l'alimentation et à la reconstitution des réserves. Nous observons donc la présence de nombreuses et grandes gouttelettes lipidiques ainsi qu'une importante quantité de glycogène. Cette observation corrobore donc parfaitement les contenus lipidiques totaux obtenus dans les foies au mois d'août par rapport aux autres mois. Singh et Singh (1990) ainsi que Washburn *et al.* (1992), signalent d'ailleurs que chez le poisson chat américain et la truite arc-en-ciel respectivement, le glycogène et les lipides enregistrent une augmentation, après leur mobilisation pendant la période d'activité des gonades, suite au retour des conditions favorables à la constitution des réserves.

Comme nous l'avons mentionné dans le matériel et méthode, nous nous intéressons aux mitochondries et au RER, deux organites cellulaires témoignant d'une importante activité hépatique (Rinchar, 1996).

Pour le RER, un organite impliqué dans la biosynthèse et le transport de protéines et de lipides cellulaires (Stevens & Lowe, 1997), nous constatons une évolution du mois d'août au mois d'avril. En effet, au mois d'août, alors que les perches sont encore en repos sexuel ou en début de vitellogenèse endogène, la surface moyenne occupée par le RER est faible (7 % d'une photographie dont la surface est de $320 \mu\text{m}^2$), mais dès le mois d'octobre, la surface occupée par celui-ci augmente de manière considérable correspondant à l'initialisation de la vitellogenèse exogène (13 % de la surface en octobre et 14 % au mois de mars). D'après Stevens & Lowe (1997), le réticulum est rare dans les cellules métaboliquement inactives et abondant dans les cellules où la synthèse est active. L'augmentation de la surface du RER semble donc liée à un accroissement d'activité de biosynthèse au cours du temps. Cet organite, qui s'agence de manière structurée autour du noyau, est lié à la synthèse de vitellogénine (Peute *et al.*, 1978; Nunez Rodriguez & Le Menn, 1986; Rinchar, 1996), comme nous l'avons mentionné un peu plus haut dans ce chapitre. Au mois d'avril, alors que la vitellogenèse exogène est terminée, le RER présente des citernes dilatées et sa surface est déjà moins importante, il perd également son aspect ordonné. La synthèse de protéines vitellines est terminée. Cette modification de l'agencement et de la surface de cet organite semble liée à un état de sénescence, comme Braunbeck et Storch (1992) l'ont mise en évidence chez la truite-arc-en-ciel.

Il est clairement établi que la synthèse de substances nutritives pour les ovocytes nécessite un important apport énergétique. Cette énergie est fournie par les processus d'oxydation qui se déroulent au sein de mitochondries et qui produisent de l'adénosine triphosphate ou ATP (Ng & Idler, 1983; Stevens & Lowe, 1997). Au niveau de la membrane interne mitochondriale, se situent les chaînes d'enzymes respiratoires, ainsi que l'ATP synthétase, responsable de la production d'énergie (Ghadially, 1988; Stevens & Lowe, 1997). Toute augmentation de la surface mitochondriale va permettre une augmentation du nombre de ces enzymes, et donc, une production d'énergie accrue (Ghadially, 1988). L'augmentation de la surface, ou hypertrophie, des mitochondries semble donc liée à cette production d'énergie. D'autre part, au mois d'août, le nombre de mitochondries est supérieur à celui du mois d'octobre. Les mitochondries sont de petites tailles. Une explication possible de ce phénomène réside peut-être dans le fait que de l'énergie est nécessaire pour constituer les stocks de lipides et de glycogène durant la période de nourrissage estivale. Dans ce cas-ci, ce ne serait donc pas l'augmentation de la surface mitochondriale, mais bien l'augmentation du nombre de mitochondries qui fournirait l'énergie nécessaire. Une fois ces réserves constituées, les besoins énergétiques ne sont plus importants et le nombre de mitochondries diminue. Cependant, dès la reprise de la vitellogenèse exogène au mois d'octobre, on observe une augmentation du nombre de particules et de la surface de celles-ci. Il y a donc à la fois hyperplasie et hypertrophie de cet organite. En effet, l'augmentation à la fois de la surface et du nombre de mitochondries entraîne une production d'énergie plus importante, étant donné que la quantité de chaînes respiratoires est plus abondante. D'après Ghadially (1988), ce phénomène s'observe dans les cellules où la demande énergétique est importante. Cette observation est vérifiée par Stevens & Lowe (1997), qui indiquent que dans les cellules ayant un métabolisme oxydatif élevé, les mitochondries sont volumineuses. Au mois d'avril, les mitochondries sont de grandes tailles, suite au métabolisme intense et présentent une

structure dégénérée, sans doute aussi liée à une activité intense. Malheureusement, aucune information n'a pu être trouvée à ce sujet. Au mois d'avril, le nombre de mitochondries diminue. Nous pouvons interpréter cette diminution comme une baisse des besoins énergétiques, au niveau du foie, étant donné que la vitellogenèse exogène est achevée et que les ovocytes ont repris leur maturation finale.

A partir du mois de février et jusqu'au mois d'avril, nous constatons l'augmentation du nombre de corps myéloïdes (figure 3.12 F, G, H). Il s'agit en fait de lysosomes, qui pratique l'autophagie. L'autophagie est un processus qui consiste à détruire et à renouveler les constituants cellulaires. Un des avantages de ce processus réside dans le fait que la portion de cellule détruite peut être remplacée, non seulement par une portion identique, mais aussi, par une autre mieux adaptée aux besoins du moment (de Duve, 1987; Ghadially, 1988). Ces lysosomes éliminent les matériaux cellulaires volumineux, tels que des amas de ribosomes, des mitochondries ou des fragments de réticulum endoplasmique. Dans notre étude, ces corps myéloïdes résultent de structures membranaires issues de divers organites. Il est cependant impossible de déterminer leur provenance avec certitude. Quoiqu'il en soit, le nombre croissant de ces structures témoigne d'un "turnover" cellulaire intense et donc d'une activité très importante. Remarquons que Rinchar (1996) avait également constaté la présence de telles structures dans le foie de poissons en fin de vitellogenèse.

Kestemont *et al.* (2001b) ont montré que la teneur lipidique de l'aliment peut provoquer une altération des fonctions hépatiques. Celle-ci se marque au niveau de l'ultrastructure hépatique par une augmentation du nombre et de la surface des gouttelettes lipidiques ainsi que par une réduction du nombre d'organites impliqués dans les processus d'oxydation et de synthèse protéique tels que le RER ou les mitochondries. Nous n'avons pas observé de phénomène semblable dans notre étude.

Dans cette partie de l'étude, il aurait été intéressant de quantifier la surface de l'appareil de Golgi, ainsi que la teneur en cet organite au sein des hépatocytes, étant donné qu'il joue un rôle important dans la biosynthèse de la vitellogénine. Malheureusement, le manque de temps ne nous a pas permis d'analyser cette structure hépatique.

Pour conclure, sur base de ce référentiel, il semble intéressant de prendre en considération l'ultrastructure hépatique lors de l'évaluation des régimes alimentaires et de leurs effets sur l'état de santé des poissons. En effet, comme Kestemont *et al.* (2001b) l'ont démontré, l'aliment apporté au poisson peut avoir un effet néfaste au niveau de l'ultrastructure hépatique et par conséquent avoir un effet sur la croissance, la qualité et le cycle de reproduction de ces mêmes individus. En effet, une disparition des structures impliquées dans la synthèse protéique va entraîner une diminution de la synthèse de vitellogénine en période de reproduction et donc provoquer un mauvais développement des gonades. Malheureusement, la réalisation de ces observations en microscopie électronique nécessite le sacrifice du poisson.

Cinquième partie:

*Conclusions et
perspectives*

Face aux problèmes de surpopulation dans le monde, qui génèrent notamment des besoins alimentaires importants et par conséquent un appauvrissement des ressources planétaires (ichtyologiques entre-autre), le développement de l'aquaculture (élevage de tous les organismes aquatiques) et plus précisément de la pisciculture (élevage des poissons) est une des solutions pour palier aux problèmes actuels et futurs de sous-alimentation et de malnutrition de nos populations. De nos jours, de nombreuses espèces sont prometteuses pour l'élevage intensif, étant donné qu'elles présentent un taux de croissance rapide, qu'elles présentent peu de comportements agressifs lorsque leur densité est importante et qu'elles acceptent une alimentation artificielle. Parmi ces espèces, nous trouvons la perche *Perca fluviatilis* L. Malheureusement, à l'heure actuelle, aucun aliment destiné à couvrir les besoins nutritionnels de ce poisson n'est disponible sur le marché. Bien souvent, ces animaux sont nourris avec des aliments conçus, à l'origine, pour les salmonidés ou pour le bar. Ces aliments se caractérisent par de hautes teneurs en lipides, ceux-ci constituant la source d'énergie préférentielle des poissons et permettant un taux de croissance optimal, via l'effet d'épargne protéique. Cependant, l'administration de ce type d'aliment, à des poissons comme la perche, présente des effets néfastes tels qu'une réduction du taux de croissance, de la résistance immunitaire et de la résistance aux stress liés à l'élevage intensif, mais aussi d'une accumulation grasseuse au sein des tissus hépatiques, ce qui pourrait générer des stéatoses. Il est donc indispensable de développer un aliment dont la composition en lipides, en acides gras ainsi que le rapport protéine/énergie correspondent aux besoins nutritionnels de cette espèce, afin d'éviter ce problème de dégénérescence grasseuse du foie.

L'objectif principal de cette étude est donc d'établir un référentiel hépatique de la perche dans son milieu naturel. Référentiel, qui permettra, par la suite, d'évaluer l'impact de divers régimes alimentaires sur son développement.

Pour réaliser ce référentiel, nous avons effectué des dosages de lipides et d'acides gras dans des foies de perches prélevées en Haute Meuse entre le mois d'août 2001 et le mois d'avril 2002. En complément, une étude de l'ultrastructure hépatique a été réalisée. Étant donné que le métabolisme lipidique est fortement influencé par l'état de maturation des gonades et par l'état nutritionnel du poisson, nous avons mené, en parallèle, une estimation des quantités de graisses périviscérales ainsi que des dosages de lipides et d'acides gras dans les muscles et les gonades, de manière à déterminer les relations existant entre ces organes et le foie tout au long d'un cycle annuel.

Au cours de notre étude, nous avons mis en évidence le cycle suivant chez les femelles de perches. Durant le mois d'août, les perches, qui sont en repos sexuel, se nourrissent activement et constituent des réserves énergétiques qui vont s'accumuler au niveau des graisses mésentériques périviscérales, ainsi qu'au niveau du foie. Nous constatons en effet, des teneurs en lipides totaux hépatiques élevées. Quant à l'ultrastructure du foie, nous remarquons d'importantes inclusions énergétiques, à savoir le glycogène et les lipides. D'autre part, de nombreuses mitochondries sont observées à proximité de ces structures. Ces organites fournissent l'énergie nécessaire à la constitution des réserves. Lorsque les stocks sont constitués, le nombre de mitochondries chute.

Dès le mois d'octobre, débute la vitellogenèse exogène, c'est-à-dire, l'accumulation au niveau des ovocytes de substances nutritives (le vitellus) synthétisées par le foie. Le foie ne synthétise pas directement le vitellus, mais bien un précurseur de celui-ci, la

vitellogénine qui est une lipoprotéine. La synthèse de celle-ci se marque, au niveau du foie, par un développement intense du RER, l'organite principal chargé de la synthèse protéique. Cette protéine est ensuite couplée à des lipides, ce qui explique la diminution des inclusions lipidiques au niveau des hépatocytes, ainsi que la diminution des teneurs en lipides totaux hépatiques, car la vitellogénine est acheminée vers les ovocytes. La machinerie de synthèse protéique nécessite une importante quantité d'énergie pour assurer la biosynthèse de la vitellogénine, ce qui se traduit au niveau de l'ultrastructure hépatique par une augmentation du nombre (hyperplasie) et une augmentation de la surface (hypertrophie) des mitochondries.

Les graisses périviscérales diminuent également durant cette période, ce qui peut être mis en relation avec le développement des gonades. Par ailleurs, les teneurs en lipides totaux dans les gonades augmentent au fur et à mesure que la vitellogenèse exogène progresse. De même, les teneurs en acides gras, C18:2 (n-6) et C18:3 (n-3) augmentent en concentration dans les gonades, durant cette période, alors qu'elles diminuent dans le foie. Il y aurait donc transfert de ces acides gras du foie vers les gonades. Le DHA augmente lui aussi dans les gonades. La découverte dans les ovaires de perches d'un acide gras à plus de 22 atomes de carbone, met en évidence une capacité d'élongation et de désaturation ne faisant pas intervenir la $\Delta 4$ désaturase de cet organe. Cet acide gras à plus de 22 atomes pourrait être du C24:5 (n-3) ou du C24:6 (n-3), acides gras intermédiaires dans la synthèse de DHA à partir du C18:3 (n-3).

Au mois d'avril, la vitellogenèse exogène est terminée, la maturation finale des ovocytes a déjà eu lieu et nous observons maintenant des ovules au lieu d'ovocytes en maturation. Au niveau de l'ultrastructure hépatique, l'arrêt de la synthèse vitellogénique est caractérisé par l'apparition d'organites en sénescence, tels que le RER, et une diminution du nombre de mitochondries, suite à une baisse des besoins énergétiques au niveau du foie. Les graisses périviscérales diminuent encore entre mars et avril étant donné qu'elles sont utilisées pour fournir l'énergie nécessaire aux dernières étapes de l'ovogenèse. Après la ponte, les stocks énergétiques sont à leurs niveaux les plus bas et les perches vont les reconstituer durant la période de nutrition estivale qui est la plus favorable étant donné l'abondance de proies.

En ce qui concerne les mâles, notre étude a mis en évidence le cycle suivant: tout comme chez les femelles, la période estivale est mise à profit pour reconstituer les stocks énergétiques. A cette période, les mâles sont immatures. Les teneurs en graisses périviscérales et en lipides totaux hépatiques sont élevées. La spermatogenèse va progresser rapidement jusqu'au mois de février, moment où les mâles sont spermiant. Cette gonadogenèse se traduit par une diminution des graisses périviscérales et des lipides totaux hépatiques. Cependant, aucune augmentation importante du niveau de lipides totaux n'est constatée dans les gonades. Les variations des teneurs en lipides hépatiques semblent donc plus liées aux variations trophiques du milieu qu'à la spermatogenèse chez les mâles. Néanmoins, le foie intervient quand même dans cette gonadogenèse étant donné que nous observons des transferts d'AA, EPA et DHA du foie vers les gonades. L'AA et l'EPA sont des précurseurs de phéromones sexuelles qui permettent de synchroniser les pontes des femelles avec l'émission de sperme par les mâles. Le DHA semble intervenir, quant à lui, dans la qualité du sperme. Cette accumulation d'acide gras cesse en février, moment où les mâles sont matures. Contrairement aux gonades femelles, chez qui nous trouvons des acides gras à plus de 22 atomes de carbones, les gonades mâles, ne présentent pas cette caractéristique. Les testicules ne semblent donc pas synthétiser de DHA.

Après la période de reproduction, les mâles reconstituent également leurs réserves énergétiques, de manière à assurer la reproduction de l'année suivante.

Notre étude a aussi confirmé les capacités d'élongations et de désaturations des acides gras, au niveau hépatique et musculaire, de part les concentrations en DHA supérieures à celles en EPA, mai aussi de part les faibles concentrations en C18:3 (n-3). De plus, cette étude a permis de confirmer que la perche est un poisson maigre étant donné que celui-ci contient moins de 1 % de lipides totaux musculaires.

En conclusion de cette étude, les perches, aussi bien mâles que femelles, utilisent principalement leurs réserves de graisses périviscérales pour assurer le développement gonadal. Le foie joue un rôle important dans cette gonadogenèse, en permettant notamment la synthèse, la transformation et le transfert de substances nutritives des zones de stockage vers les gonades. Chez les femelles, le foie subit de profondes modifications de son ultrastructure au cours de l'ovogenèse, les organites entrant notamment en sénescence à la fin de celle-ci. Ce fait est donc à prendre en considération, lors de l'élevage intensif des géniteurs, étant donné qu'un foie "fatigué" suite à une synthèse protéique active couplée avec un régime non adapté aux besoins énergétiques, pourrait entraîner des conséquences dramatiques sur la santé des individus d'élevage, et sur la qualité des poissons produits. Il faut également tenir compte qu'un apport continu d'aliments tout au long de l'année entraîne que les poissons d'élevages sont plus gras que leurs congénères sauvages. Des accumulations graisseuses au niveau du foie et une diminution de certains organites essentiels à la vitellogenèse apparaissent en cas de régime alimentaire non-adéquat, ce qui entraîne des conséquences néfastes sur la reproduction des individus. Cependant, de nombreuses voies d'investigations restent encore ouvertes.

Comme nous l'avons déjà signalé, il serait souhaitable de déterminer la composition en classes de lipides et en acides gras constituant les graisses périviscérales, qui constituent la réserve énergétique principale chez la perche et d'en déterminer les relations avec le foie et les gonades.

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés à l'ultrastructure des hépatocytes femelles. Il serait également utile de mener la même étude sur les mâles, afin de déterminer les variations éventuelles de la structure des hépatocytes au cours de la spermatogenèse.

De plus, nous pourrions élargir le champ d'étude de l'ultrastructure hépatique à d'autres organites, tels que l'appareil de Golgi, les lysosomes ou les peroxysomes. L'appareil de Golgi intervient essentiellement dans la transformation des produits synthétisés par le RER. Les lysosomes interviennent dans le "nettoyage" des hépatocytes, pour éliminer les structures non nécessaires et les peroxysomes interviennent, entre autre, dans la synthèse de DHA à partir de composés à 24 atomes de carbones.

Enfin, il serait souhaitable de réaliser des dosages d'enzymes hépatiques impliquées dans la synthèse *de novo* des acides gras ou dans l'élongation et la désaturation des acides gras essentiels.

*Références
bibliographiques*

- Ackman, R.G.** (1980). Fish lipids. Part I. *In: Advances in fish Science and Technology*, 87-103. Edited by J.J. Connell. Fishing News Books Ltd., Farnham, Surrey, UK.
- Ackman, R.G.** (1995). Composition and nutritional value of fish and shellfish lipids. *In: Fish and Fisheries Products. Composition, Nutritive Properties and stability*, 117-156. Edited by A. Ruiter. CAB International.
- Adron, J.W., Blair, A., Cowey, C.B. & Shanks, A.M.** (1976). Effects of dietary energy level and dietary energy source on growth, feed conversion and body composition of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, **7**: 125-132.
- Ågren, J., Muje, P., Hänninen, O., Herranan, J. & Penttilä, J.** (1987). Seasonal variations of lipid fatty acids of boreal freshwater fish species. *Comp. Biochem. Physiol.*, **88 B**, No 3: 905-909.
- Aida, K., Hirose, K., Yokote, M. & Hibiya, T.** (1973). Physiological studies on gonadal maturation of fishes. II. Histological changes in the liver cells of Ayu following gonadal maturation and estrogen administration. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **39**: 1107-1115.
- Aksnes, A., Gjerde, B. & Roald, S.** (1986). Biological, chemical and organoleptic changes occurring during maturation of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, **53**: 7-20.
- Alliot, E., Pastoureaud, A. & Nedelec, J.** (1979). Etude de l'apport calorique et du rapport calorico-azoté dans l'alimentation du bar (*Dicentrarchus labrax*). Influence sur la croissance et la composition corporelle. *In: Finfish Nutrition and Fishfeed Technology* (J.E. Halver & K. Tiews, eds.), **vol 1**: 241-252. Heenemann, Berlin.
- Almansa, E., Martín, M.V., Cejas, J.R., Badía, P., Jerez S. & Lorenzo, A.** (2001). Lipid and fatty acid composition of female gilthead seabream during their reproductive cycle: effects of a diet lacking n-3 HUFA. *J. Fish Biol.*, **59**: 267-286.
- Ando, S., Mori, Y., Nakamura, K & Sugawara, A.** (1993). Characteristics of lipid accumulation types in five species of fish. *Bull. Japan. Soc. Sci. fish.*, **59**: 1559-1564.
- Arnold, H., Pluta, H.J., Braunbeck, T.** (1995). Simultaneous exposure of fish to endosulfan and disulfoton in vivo: ultrastructural, stereological and biochemical reactions in hepatocytes of male rainbow trout. *Aquat. Toxicol.*, **33**: 17-43.
- Ashton, I., Clements, K., Barrow, S.E., Secombes, C.J. & Rowley, A.F.** (1994). Effect of dietary fatty acids on eicosanoid-generating capacity, fatty acid composition and chemotactic activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) leucocytes. *Biochim. Biophys. Acta*, **1214**: 253-262.
- Aster, P.L. & Moon, T.W.** (1981). Influence of fasting and diet on lipogenic enzymes in the American eel (*Anguilla rostrata* LeSueur). *J. Nutr.*, **111**: 346-354.
- Bailey, J.R. & Driedzic W.R.** (1993) Influence of low temperature acclimation on the fate metabolic fuels in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hearts. *Can. J. Zool.*, **71**: 2167-2173.
- Barciella, P., Soengas, J.L., Rey, P., Aldegunde, M. & Rozas, G.** (1993). Carbohydrate metabolism in several tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is modified during ovarian recrudescence. *Comp. Biochem. Physiol.*, **106B**: 943-948.
- Barry, T.P., Malison, J.A., Lapp, A.F. & Procarione, L.S.** (1995). Effects of selected hormones and male cohorts on final oocytes maturation, ovulation and steroid production in walleye (*Stizostedion vitreum*). *Aquaculture*, **138**: 331-347.
- Bauermeister, A.E.M. & Sargent, J.R.** (1979). Biosynthesis of triacylglycerols in the intestines of rainbow trout (*Salmo gairdnerii*) fed marine zooplankton rich in wax esters. *Biochim. Biophys. Acta*, **575**: 358-364.
- Bell, J.G.** (1998). Current aspects of lipid nutrition in fish farming. *In: Biology of*

farmed fish. 114-145. Edited by Black, K.D. & Pickering, A.D. Sheffield Academic Press Ltd., England.

Bell, J.G. & Dick, J.R. (1993). Effect of diets rich in linoleic or alpha-linoleic acid on phospholipid fatty-acid composition and eicosanoid production in atlantic salmon (*Salmo salar*). *Lipids*, **28**: 819-826.

Bell, J.G., Farndale, B.M., Bruce, M.P., Navas, J.M. & Carillo, M. (1997). Effects on broodstock dietary lipid on fatty acid compositions of eggs from sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, **149**: 107-119

Bell, M.V. & Dick, J. (1991). Molecular species composition of the molecular diacyl glycerophospholipids from muscle, liver, retina and brain of cod (*Gadus morhua*). *Lipids*, **26**: 565-573.

Bell, M.V. & Sargent, J.R. (1985). Fatty acid analyses of phosphoglyceride from tissues of the clam (*Clamys islandica* Muller) and the starfish (*Ctenodiscus crispatus* Retzius) from Balsfjorden, Northern Norway. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **87**: 31-40.

Bell, M.V., Batty, R.S., Dick, J.R., Fretwell, K., Navarro, J.C., Sargent, J.R. (1995). Dietary deficiency of docosahexaenoic acid impairs vision at low light intensities in juvenile herring (*Clupea harengus* L.). *Lipids*, **30**: 443-449.

Bell, M.V., Henderson, R.J., Pirie, B. J.S. & Sargent, J.R. (1985). *J. Fish Biol.*, **26**: 163-198.

Bell, M.V., Henderson, R.J. & Sargent, J.R. (1986). The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. **83B**, No 4: 711-719.

Bergink, W., Tseng, M.T. & Wittliff, J.L. (1977). Sequential changes in the structure and function of hepatocytes in estrogen-treated (*Xenopus laevis*) males. *Cytobiology*, **14**: 362-377.

Berglund, I. (1995). Effects of spring temperature and feeding regime on sexual maturation in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) male parr. In: Goetz, F.W., Thomas, P. (Eds), Reproductive Physiology of fish. Fish Symp. 95, Austin, 1995: 170-172.

Bergman, E. (1990). Change in abundance of two percids, (*Perca fluviatilis*) and (*Gymnocephalus cernuus*), along a productivity gradient: relations to feeding strategies and competitive abilities. *Can. J. Fish Aquat.*, **48** (4): 536-545.

Bilinski, E & Jonas, R.E.E. (1970). Effects of coenzymes and carnitine on fatty acid oxidation by rainbow trout mitochondria. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **28**: 857-863.

Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Dév.*, **26**: 877-920.

Bligh E.G. & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **37**: 911-917.

Braunbeck, T. (1993). Cytological alterations in isolated hepatocytes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed *in vitro* to 4-chloroaniline. *Aquat. Toxicol.*, **25**: 83-110

Braunbeck, T. & Storch, V. (1992). Senescence of hepatocytes isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in primary culture: an ultrastructural study. *Protoplasma*, **170**: 138-159.

Braunbeck, T., Storch, V. & Nagel, R. (1989). Sex specific reaction of liver ultrastructure in zebrafish (*Brachydanio rerio*) after prolonged sublethal exposure to 4-nitrophenol. *Aquat. Toxicol.*, **14**: 185-202.

Braunbeck, T., Storch, V. & Nagel, R. (1990). Hepatic steatosis in zebrafish (*Brachydanio rerio*) induced by long-term exposure to γ -hexachlorocyclohexane. *Ecotox. Environ. Safety*, **19**: 355-374.

Brett, J.R. (1983). Life energetics of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in Behavioural Energetics: The Cost of Survival in vertebrates (eds W.P. Aspey & S.I.

Lustick), Ohio State University, Columbus: 29-63.

Brett, J.R. & Groves, T.D.D. (1979) Physiological energetics. *In* Hoar, W.S., Randall, D.J., Brett, J.R. (Eds), Bioenergetics and growth. Fish physiology, vol. VIII, Academic Press, New York.

Bromage, N.R. (1995). Broodstock management and seed quality.- General considerations - *In*: Bromage, N.R. & Roberts, R.J. (eds.): Broodstock management and egg and larval quality in fish: 1-25. Blackwell Science, Oxford.

Bromage, N., Jones, J., Randall, M., Thrush, M. Davies, B., Springate, J., Duston, J. & Barker, G. (1992). Broodstock management, fecundity, egg quality and the timing of egg production in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **100**: 141-166.

Bromley, P.J. (1980). Effect of dietary protein, lipid and energy content on growth of turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *Aquaculture*, **19**: 359-369.

Brusle, J. & Gonzalez, G. (1996). The structure and function of fish liver. *In* Fish morphology Horizon of New Research (Munshi, J.S.D. & Dutta, H.M. eds), 77-93. Lebanon, Science Publishers Inc.

Campbell, N.A. (1995). Biologie. De Boeck Université, Belgium, 1190 p.

Campbell, C.M. & Idler D.R. (1980). Characterisation of an estradiol induced protein from rainbow trout serum as vitellogenin by the composition and radioimmunological cross reactivity to ovarian yolk fractions. *Biol. Reprod.*, **22**: 605-617.

Carter, C.G., Houlihan, D.F., Brechin, J. & McCarthy, I.D. (1993). The relationships between protein intake and protein accretion, synthesis and retention efficiency for individual grass carp, (*Ctenopharyngodon idella* Val.). *Can. J. Zool.*, **71**: 393-400.

Castell, J.D., Lee, D.J. & Sinnhuber, R.O. (1972a). Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Lipid metabolism and fatty acid composition. *J. Nutr.*, **102**: 93-100.

Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Lee, D.J. & Wales, J.H. (1972b). Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Physiological symptoms of essential fatty acid deficiency. *J. Nutr.*, **102**: 87-92.

Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Wales, J.H. & Lee, D.J. (1972c). Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*): Growth, feed conversion and some gross deficiency symptoms. *J. Nutr.*, **102**: 77-85.

Cerdá, J., Carrillo, M., Zanuy, S. & Ramos, J. (1994). Effect on food ration on estrogen and vitellogenin plasma levels, fecundity and larval survival in captive sea bass (*Dicentrarchus labrax*), preliminary observations. *Aquat. Living Resour.*, **7**: 255-256.

Cerdá, J., Zanuy, S., Carrillo, M., Ramos, J. & Serrano, R. (1995). Short- and long-term dietary effects on female sea bass (*Dicentrarchus labrax*): seasonal changes in plasma profiles of lipids and sex steroids in relation to reproduction. *Comp. Biochem. Physiol.*, **111**: 83-91.

Chapelle, S. (1978). The influence of acclimation temperature of the fatty acid composition of an aquatic crustacean (*Carcinus maenas*). *J. Exp. Zool.*, **204**: 337-346.

Chapman, N.J. (1980). Animal lipoproteins: chemistry, structure and comparative aspects; *J. Lipid Res.*, **21**: 789-853.

Clarke, W.C., Higgs, D.A., Markert, J.R., Shelbourn, J.E. & Casteldine, A.J. (1982). Effect of varying protein: lipid ratios on growth and body composition of coho salmon (*Oncorhynchus kysutch*) reared at different temperatures. *Can. Data. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, **373**, IV: 18p.

- Collins, A.L. & Anderson, T.A.** (1999). The role of food availability in regulating reproductive development in female golden perch. *J. Fish Biol.*, **55**: 94-104.
- Corraze, G.** (1994). Amino acid requirements of fish: a critical appraisal of present values. *Aquaculture*, **124**: 1-11.
- Corraze, G.** (1999). Nutrition lipidique, chapitre 7. *In* Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. Guillaume, Kaushik, Bergot & Métailler Eds. INRA-IFREMER Publ., 147-169.
- Corraze, G., Larroquet, L. & Médale, F.** (1999). Alimentation et dépôts lipidiques chez la truite arc-en-ciel, effet de la température d'élevage. *INRA Prod. Anim.*, **12** (4) : 249-256.
- Cowey, C.B.** (1993). Some effects of nutrition on flesh quality of cultured fish. *In*: Fish Nutrition in Practice. Proc.IV Int. Symp. Fish nutrition and feeding, 227-236. Edited by S.J. Kaushik and P. Luquet. Les Colloques INRA, No **61**: Editions INRA, Paris.
- Cowey, C.B. & Sargent, J.R.** (1972). *Adv. Mar. Biol.*, **10**: 383.
- Cowey, C.B. & Sargent, J.R.** (1979). *In*: Fish Physiology. (W.S. Hoar, D.J. Randall & J.R. Brett, eds.), vol **8**: pp 1-69. Academic Press, New York.
- Cowey, C.B., Adron, J.W. & Brown, D.A.** (1975). Studies on the nutrition of marine flatfish. The metabolism of glucose by plaice (*Pleuronectes platessa*) and the effect of dietary energy source on protein utilization in plaice. *Br. J. Nutr.*, **33**: 219-231.
- Cowey, C.B., Owen, J.M., Adron, J.W. & Middleton, C.** (1976). Studies on the nutrition of marine flatfish. The effect of different dietary fatty acids on the growth and fatty acid composition of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Br. J. Nutr.*, **36**: 479-486.
- Craig, J.F.** (1977). The body composition of adult perch (*Perca fluviatilis* L.) in Widemere, with reference to seasonal changes and reproduction. *J. Anim. Ecol.*, **46**: 617-633.
- Craig, J.F.** (1987). The biology of perch and related fish. Timber press (Portland, Oregon), London & Sydney.
- Craig, J.F.** (2000a). Morphology an Anatomy. *In* Percid Fishes. Systematics, ecology and exploitation. Blackwell Sciences, Oxford, 15-37.
- Craig, J.F.** (2000b). Reproduction and Development. *In* Percid Fishes. Systematics, ecology and exploitation. Blackwell Sciences, Oxford, 55-76.
- Dabrowski, K., Ciereszko, R.E., Ciereszko, A., Toth, G.P., Christ, S.A., El-Saidy, D & Ottobre, J.S.** (1996). Reproductive physiology of yellow perch (*Perca flavescens*): environmental and endocrinological cues. *J. Appl. Ichtyol.*, **12**: 139-148.
- Dagnelie, P.** (1975). Théorie et méthodes statistiques. Applications agronomiques. Volume II: Les méthjodes de l'inférence statistique. Les Presses Agronomiques de Gembloux, Gembloux, 463p.
- de Duve, C.** (1987). La cellule vivante. De Boeck Université, Belgium, 437 p.
- Delahunty, G. & de Vlaming, V.L.** (1980). Seasonal relationships of ovary weight, liver weight and fat stores with body weight in the goldfish (*Carassius auratus* L.). *J. Fish Biol.*, **16**: 5-13.
- DeLong, D.C., Halver, J.E. & Mertz, E.T.** (1958). *J. Nutr.*, **65**: 589.
- De Vlaming, V.L.** (1983). Oocyte development patterns and hormonal involvements among teleosts; *In* Controll Processes in fish Physiology (Rankin, J.C.; Pitcher, T.J. & Duggan, R.T. eds), Croom Helm, London, 176-199.
- Dias, J.P.** (1999). Lipid deposition in Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*): nutritional regulation of hepatic lipogenesis. Thesis: Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar. Universidade do Porto,

Portugal, 186p.

Eliassen, J.E. & Vahl, O. (1982). Seasonal variations in biochemical composition and energy content liver, gonad and muscle of mature and immature cod (*Gadus morhua* L.). from Balsfjorden, northern Norway. *J. Fish Biol.*, **20**: 707-716.

Evans, R.P., Parrish, C.C., Brown, J.A. & Davis, P.J. (1996). Biochemical composition of eggs from repeat and first-time spawning captive Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Aquaculture*, **139**: 139-150.

Fauconneau, B., Corraze, G., Lebail, P.Y. & Vernier, J.M. (1990). Les lipides de dépôt chez les poissons d'élevage: contrôle cellulaire, métabolique et hormonal. *INRA Prod. Anim.*, **3**(5): 369-381.

Fernández-Palacios, H., Izquierdo, M.S., Robaina, L., Valencia, A., Salhi, M. & Vergara, J.M. (1995). Effect of (n-3) HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.). *Aquaculture*, **132**: 325-337.

Ferroni, J.M., Bau, F., Parent, J.P. & Vellas, F. (1992). Variation in somatic components in perch (*Perca fluviatilis* L.). from Pareloup Lake (Aveyron, France). *Ichthyophysiological Acta*, **15**: 69-78.

Fiogbé, E.D. (1996). Contribution à l'étude des besoins nutritionnels chez les larves et juvéniles de la perche fluviatile (*Perca fluviatilis* L.). Presses Universitaires de Namur. 334 p.

Fiogbé, E.D., Kestemont, P., Mélard, C. & Micha, J.C. (1996). The effects of dietary crude protein on growth of the Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquaculture*, **144**: 239-249.

Folch, J., Lees, M. & Sloane-Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Chem.*, **266**: 497-509.

Frémont, L. & Riazi, A. (1988). Biochemical analysis of vitellogenin from rainbow trout (*Salmo gairdneri*): fatty acid composition of phospholipids. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **28**: 939-952.

Frémont, L., Léger, C., Petridou, B. & Gozzelino, M.T. (1984). Effects of a (n-3) polyunsaturated fatty acid deficient diet on profiles of serum vitellogenin and lipoprotein in vitellogenic trout (*Salmo gairdneri*). *Lipids*, **19**: 522-528.

Fujii, M. & Yone, Y. (1976). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **42**: 583-588.

Fukazawa, T., Privett, O.S. & Takahashi, Y. (1971). Effect of EFA deficiency on lipid transport from liver. *Lipids*, **6**: 388-393.

Garling, D.L., Jr. & Wilson, R.P. (1976). Optimum dietary protein to energy ratio for channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fingerlings. *J. Nutr.*, **106**: 1368-1375.

Gatesoupe, F.J., Leger, C., Metailler, R. & Luquet, P. (1977). Alimentation lipidique du turbot (*Scophthalmus maximus* L.) II. Influence de la supplémentation en esters méthyliques de l'acide linoléique et de la complémentation en acides gras de la série (n-9) sur la croissance. *Ann. Hydrobiol.*, **8**: 89-97.

Ghadially, F.N. (1987). Ultrastructural pathology of the cell and matrix. Third edition, vol 1, Butterworths, Londre, 587 p.

Goldstein, L. & Forester, R.P. (1970). Comparative Biochemistry of Nitrogen Metabolism. (J.W. Campbell, ed.), vol **2**: 495-518. Academic Press, New York.

Grant, S.M., Brown, J.A. & Boyce, D.L. (1998). Enlarged fatty livers of small juvenile cod: a comparison of laboratory-cultured and wild juveniles. *J. Fish Biol.*, **52**: 1105-1114.

Grisdale-Helland, B. & Helland, S.J. (1997). Replacement of protein by fat and carbohydrate in diet for Atlantic salmon (*Salmo salar*) at the end of the freshwater stage. *Aquaculture*, **152**: 167-180.

Guillaume, J. & Choubert, G.(1999). Physiologie digestive et digestibilité des

nutriments chez les poissons, chapitre 4. *In* Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. Guillaume, Kaushik, Bergot & Métailler Eds. INRA-IFREMER Publ., 51-86.

Guma'a, S.A. (1978). The food web and feeding habits of young perch, (*Perca fluviatilis*), in Windermere. *Freshwater Biology*, **8**: 177-187.

Gurr, M.I. & Harwood, J.L. (1991). Lipid Biochemistry. An introduction. 4th Edition, Chapman and Hall, London, 406.

Halver, J.E. (1989). Fish nutrition. Academic Press, San Diego, 798 p.

Haug, T. & Gulliksen, B. (1988). Variations in liver and body composition during gonad development of atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Fisk. Dir. Skr. Ser. HavUnders.*, **18**: 351-363.

Haux, C. & Norberg, B. (1985). The influence of estradiol-17 β on the liver content of protein, lipids, glycogen and nucleic acids in juvenile rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp Biochem. Physiol.*, **81B**: 275-279.

Hawkins, A.J.S. (1991). Protein turnover: a functional appraisal. *Functional Ecology*, **5**: 222-223.

Heidinger, R.C. & Crawford, S.D. (1977). Effect of temperature and feeding rate on the liver-somatic index of the largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *J. Fish Biol.*, **34**: 633-638.

Hemre, G.I., Karlson, Ø., Lehmann, G., Holm, J.C. & Lie, Ø. (1993). Utilization of protein, fat and glycogen in cod (*Gadus morhua*) during starvation. *Fiskeridirektoratets Skrifter Serie Ernoering*, **6**: 1-9.

Henderson, R.J. (1996). Fatty acid metabolism in freshwater fish with particular reference to polyunsaturated fatty acids. *Arch. Anim. Nutr.*, **49**: 5-22.

Henderson, R.J. & Almatar, S.M. (1989). Seasonal changes in the lipid composition of herring (*Clupea harengus*) in relation to gonad maturation. *J. Mar. Biol.*, **69**: pp 323-334.

Henderson, R.J. & Sargent, J.R. (1981). Lipid biosynthesis in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets of differing lipid content. *Comp. Biochem. Physiol.*, **69C**: 31-37.

Henderson, L.J. & Tocher, D.R. (1987). The lipid composition and biochemistry of freshwater fishes. *Prog Lipid.Res.*, **26**: 281-347.

Henderson, R.J., Sargent, J.R. & Hopkins, C.C.E (1984). Changes in the content and fatty acid composition of lipid in an isolated population of the capelin (*Mallotus villosus*) during sexual maturation and spawning. *Mar. Biol.*, **78**: 255-263.

Henderson, A., Wong, J.L. & Nepszy, S.J. (1996). Reproduction of Walleye in Lake Erie: allocation of energy. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **53**: 127-133.

Hibiya T. (1982). Gonads. *In* An atlas of fish Histology. Normal and Pathological features (Hibiya, T. ed), Gustav Fisher Verlag, Stuttgart, 104-111.

Hillestad, M. & Johnsen, F. (1994). High energy/low protein diets for Atlantic salmon: effects on growth, nutrient retention and slaughter quality. *Aquaculture*, **12**: 109-116.

Hilton, J.W., & Slinger, S.J. (1981). Nutrition and feeding of rainbow trout. *Can. Spec. Publ. Fish. Aquat. Sci.*, **55**: 15 p.

Holdway, D.A. & Beamish, F.W.H. (1984). Specific growth rate and proximate body composition of Atlantic cod (*Gadus morhua*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **81**: 147-170.

Hood, R.L., Thompson, E.H. & Allen, C.E. (1972). The role of acetate, propionate, and glucose as substrates for lipogenesis in bovine tissues. *Int. J. Biochem.*, **3**: 598-606.

Hori, SH., Kodama, T. & Tanahashi, K. (1979). Introduction of vitellogenin synthesis in goldfish by massive doses of androgens. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **37**:

306-320.

- Houlihan, D.F., Hall, S.J., Gray, C. & Noble, B.S.** (1988). Growth rate and protein turnover in Atlantic cod, (*Gadus morhua*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **4**: 951-964.
- Idler, D.R. & Bitners, I.** (1960). *J. Fish. Res. Board. Can.*, **17**: 113-122.
- Iijima, N., Aida, S. & Kayama, M.** (1990). Intestinal-absorption and plasma transport of dietary fatty-acids in carp. *Bull. Japan. Soc. Sci. fish.*, **56**: 1829-1837.
- Izquierdo, M.S., Fernández-Palacios, H., Tacon, A.G.J.** (2001). Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture*, **197**: 25-42.
- Jamet, J.L. & Desmolles, F.** (1994). Growth, reproduction and condition of roach (*Rutilus rutilus* L.), perch (*Perca fluviatilis* L.) and ruffe (*Gymnocephalus cernuus* L.) in eutrophic lake Aydat (France). *Int. Rev. Ges. Hydrobiol.*, **79**: 305-322.
- Jauncey, K.** (1982). *Aquaculture*, **2**: 43.
- Jezierska, B., Hazel, J.R. & Gerking, S.D.** (1982). Lipid mobilisation during starvation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) with attention to fatty acids. *J. Fish Biol.*, **21**: 681-692.
- Jobling, M.** (1995). Reproduction. In *Environmental Biology of Fishes*. Fish & Fisheries series 16 (Jobling, M. ed), Chapman & Hall, London. 298-355.
- Jobling, M., Knudse, R., Pedersen, P.S. & Dos Santos, J.** (1991) Effect of dietary composition and energy content on the nutritional energetics of cod (*Gadus morhua*). *Aquaculture*, **92**: 243-257.
- Kalogeropoulos, N., Alexis, M.N. & Henderson, R.J.** (1992). Effects of dietary soybean and cod liver oil on growth and body composition of gilthead bream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, **104**: 293-308.
- Kanazawa, A., Teshima, S-I., Sakamoto, M. & Awal, M.A.** (1980). Requirements of Tilapia zillii for essential fatty acids. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **43**: 1353-1356.
- Kanungo, J., petrino, T.R. & Wallace, R.A.** (1990). Oogenesis in (*Fundulus heteroclitus*). VI. Establishment and verification of conditions for vitellogenin incorporation by oocytes in vitro. *J. Exp. Zool.*, **254**: 313-321.
- Kayama, M., Mankura, M. & Iheda, Y.** (1979). Hydrolysis and synthesis of wax esters by different systems of carp hepatopancreas preparation. *J. Biochem.*, **85**: 1-6.
- Kayes, T.B.** (1977). Reproductive biology and artificial propagation methods for adult perch. In: *Perch Fingerling Production for Aquaculture* (ed. R.W. Soderberg), 6-23. University of Wisconsin Sea Grant Program Advisory Report, 421.
- Kestemont, P.** (1989). Etude du cycle reproducteur du goujon (*Gobio gobio* L.).2. Variations saisonnières dans l'histologie des testicules *J. Appl. Ichtyol.*, **5**: 111-121.
- Kestemont, P. & Dabrowski, K.** (Eds), (1996). Recent advances in the aquaculture of percid fish. *J. Appl. Ichthyol.*, **12**: 137-200.
- Kestemont, P. & Mélard, C.** (2000) Chap 11: Aquaculture. In *Percid Fishes. Systematics, ecology and exploitation*. John F. Craig. Blackwell Sciences, Oxford, 191-224.
- Kestemont, P., Rinchar, J., Damoiseau, F. & Tans, M.** (2001a). Seasonal variations in egg and larval quality in two multiple-spawner cyprinid fish, the bleak (*Alburnus alburnus*) and the white bream (*Blicca bjoerkna*). *Arch. Hydrobiol.*, vol **12**: No 2-4, *Suppl Large Rivers*, **135/2-4**: 357-371.
- Kestemont, P., Vandeloise, E., Mélard, C., Fontaine, P. & Brown, P.** (2001b). Growth and nutritional status of Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) fed graded levels of dietary lipids with or without added ethoxyquin. *Aquaculture*, **203**: 85-99.
- Kime, D.E. & Manning, N.J.** (1982). Seasonal patterns of free and conjugated androgens in the brown trout (*Salmo trutta*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **48**: 222-231.
- Kirilov, A.F., Akhremenko, A.K.** (1982). Seasonal changes in energy substrate

concentration in the tissues of the Vilyui Reservoir perch (*Perca fluviatilis*). *J. Ichthyol.*, 129-133.

Kiron, V., Fukuda, H., Takeuchi, T. & Watanabe, T. (1995). Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **48 B**: 641-649.

Kjorsvik, E., Mangor-Jesen, A. & Holmefjord, I. (1990). Egg quality in fishes. *Adv. Mar. Biol.*, vol. **26**: Academic Press, London, 71-113.

Korsgaard, B. (1990). Estrogen treatment and its influence on protein synthesis and amino acid metabolism in (*Zoarcetes viviparus* L.). males. *Fish Physiol. Biochem.*, **8**: 121-127.

Kritchevsky, D. (1986). Atherosclerosis and nutrition. *Nutrition International*, **2**, 290-297.

Lall, S.P. & Olivier, G. (1993). Role of micronutrients in immune response and disease resistance. In: Fish Nutrition in Practice. Proc. IV Int. Symp. Fish Nutrition and feeding, 101-118. Edited by S.J. Kaushik & P. Luquet. Les colloques INRA, No.61: Edition INRA, Paris.

Lambert, Y. & Dutil, J.D. (1997). Can simple indices be used to monitor and quantify seasonal changes in the energy reserves of cod (*Gadus morhua*)? *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54** (suppl. 1): 104-112.

Langeron, M. (1942). Précis de microscopie: technique-expérimentation-diagnostique, Masson & Cie, Paris.

Le Cren, E.D. (1951). The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weight and condition in perch (*Perca fluviatilis*). *J. Anim. Ecol.*, **20**: 201-219.

Lee, D.J. & Putnam, G.B. (1973). The response of rainbow trout of varying protein-energy ratios in a test diet. *J. Nutr.*, **103**: 916.

Léger, C., Frémont, L., Marion, D., Nassour, I. & Desfarges, M.-F. (1981). Essential fatty acids in trout serum lipoproteins, vitellogenin and egg lipids. *Lipids*, **16**: 593-600.

Lenhardt, M. (1992). Seasonal changes in some blood chemistry parameters in relative liver and gonad weights of pike (*Esox lucius* L.). from the river Danube. *J. Fish Biol.*, **40**: 709-718.

Leray, C., Nanotte, G., Rouband, P. & Leger, C. (1985). Incidence of (n-3) essential fatty acid deficiency on trout reproductive processes. *Reprod. Nutr. Dev.*, **25**: p 567-581.

Lim, P.K., Boey, P.L. & Ng, W.K. (2001). Dietary palm oil level affects growth performance, protein retention and tissue vitamin E concentration of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Aquaculture*, **202**: 101-112.

Lin, H., Romsos, D.R., Tack, P.I. & Leveille, G.A. (1977a). Influence of diet on *in vitro* and *in vivo* rates of fatty acid synthesis in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum). *J. Nutr.*, **107**: 1677-1682.

Lin, H., Romsos, D.R., Tack, P.I. & Leveille, G.A. (1977b). Influence of dietary lipid on lipogenic enzyme activities in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch* Walbaum). *J. Nutr.*, **107**: 846-854.

Linares, F. & Henderson, R.J. (1991). Incorporation of 14-labelled polyunsaturated fatty acids by juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.). *in vivo*. *J. Fish Biol.*, **38**: 335-347.

Livertoux, E. (1995). La perche fluviatile (*Perca fluviatilis*) sa biologie, son élevage. (Synthèse bibliographique).

Love, R.M. (1970). The chemical Biology of Fishes. New York: Academic Press, 547 p.

- Love, R.M.** (1980). The chemical Biology of Fishes. 2nd Edition. London: Academic Press, 943 p.
- Lovell, T.** (1989). Nutrition and feeding of fish. Van Nostrand Reinhold, New York, 260 p.
- Lyndon, A.R., Houlihan, D.F. & Hall, S.J.** (1992). The effect of shorter fasting and a single meal on protein synthesis and oxygen consumption in cod (*Gadus morhua*). *J. Comp. Physiol. B*, **162**: 209-215.
- Mackay, I. & Mann, K.H.** (1969). Fecundity of two cyprinid fishes in the river Thames, Reading, England. *J. Fish. Res. Board. Can.*, **26**: 2795-2805.
- Maître, J.L., Mercier, L., Dolo, L. & Valotaire, Y.** (1985). Caractérisation des récepteurs spécifique à l'oestradiol, induction de la vitellogénine et de son ARNm dans le foie de la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*). *Biochimie*, **67**: 215-225.
- Makarova, N.P.** (1973). Seasonal changes in some of the physiological characteristics of perch (*Perca fluviatilis*) of Ivan'kovo reservoir. *J. Ichtyol.*, **13**: 742-752.
- Mambrini, M. & Guillaume, J.** (1999). Nutrition protéique, chapitre 6. In Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. Guillaume, Kaushik, Bergot & Métailler Eds. INRA-IFREMER Publ., 113-146.
- Mathis, N., Feidt, C., Brun-Bellut, J.** (2002) Influence of protein/energy ratio on quality during the growing period of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquaculture*, (in press).
- Mazid, M.A., Tanaka, Y., Katayama, T., Simpson, K.L., Rahman, M.A. & Chichester, C.O.** (1979). *Aquaculture*, **18**: 115.
- McClelland, G., Zwingelstein, G., Weber, J-M. & Brichon, G.** (1995). Lipid composition of tissue and plasma in two Mediterranean fishes, the gilthead seabream (*Chrysophrys auratus*) and the European bass (*Dicentrarchus labrax*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **52**: 161-170.
- Médale, F. & Guillaume, J.** (1999). Nutrition énergétique, chapitre 5. In Nutrition et alimentation des poissons et crustacés. Guillaume, Kaushik, Bergot & Métailler Eds. INRA-IFREMER Publ., 87-111.
- Medford, B.A. & Mackay, W.C.** (1978). Protein and lipid content of gonads, liver and muscle of northern pike (*Esox lucius*) in relation to gonad growth. *J. Fish Res. Board Can.*, **35**: 213-219..
- Mélard, C., Kestemont, P. & Grignard, J.C** (1996). Intensive culture of juvenile and adult Eurasian perch (*Perca fluviatilis*): Effect of major biotic factors on growth. *J. Appl. Ichthyol.*, **12**: 175-180.
- Migaud, H.** (2002). Influence des variations de la température et de la photopériode sur le cycle de reproduction et la qualité des pontes de la perche commune (*Perca fluviatilis*). Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy-1, France, 167 p.
- Millikin, M.R.** (1983). *Trans. Am. Fish. Soc.*, **112**: 185.
- Mommsen, T.P. & Walsh, P.J.** (1988). Vitellogenesis and oocyte assembly. In Fish physiology, vol. IXA, (Hoar, W.S., Randall, D.J. & Donaldson, E.M. eds). Academic Press, New York, 347-406.
- Moodie, G.E.E., Loadman, N.L. & Wiegand, M.D.** (1989). Influence of eggs characteristics on survival growth and feeding in larval walleye (*Stizostedion vitreum*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **46**: 516-521.
- Mourente, G. & Odriozola, J.M.** (1990). Effect of broodstock diets on lipid classes and their fatty acid composition in eggs on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Fish Physiol. Biochem.*, **8**: 93-101.
- Mourente, G., Megina, C. Díaz-Salvago, E.** (2002). Lipids in female bluefin tuna

- (*Thunnus thynnus thynnus* L.). during sexual maturation. *Fish physiol. Biochem.*, **24**: 351-363.
- Murata, H. & Higashi, T.** (1979). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**: 211.
- Murray, M.W., Andrews, J.W. & Deloach, H.L.** (1977). Effects of dietary lipids, dietary protein and environmental temperatures on growth, feed conversion and body composition of channel catfish. *J. Nutr.*, **107**: 272-280.
- Muus, B.J. & Dahlström, P.** (1981). Guides des poissons d'eau douce et pêche. Delachaux et Niestlé, Neuchâtel, 223 p.
- Nagahama, Y.** (1983). The functional morphology of teleost gonads. In *Fish Physiology*, vol IXA, (Hoar, W.S., Randall, D.J. & Donaldson, E.M. eds), Academic Press, New York, 223-275.
- Nassour, I. & Léger, C.L.**, (1989). Deposition and mobilisation of body fat during sexual maturation in female trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquat. Living Resour.*, **2**: 153-159.
- National Research Council** (1981). Nutrient Requirements of coldwater Fishes. National Academic Press, Washington D.C.
- Navas, J.M., Bruce, M.P., Thrush, M., Farndale, B.M., Bromage, N., Zanuy, S., Carrillo, M., Bell, J.G. & Ramos, J.** (1997). The impact of seasonal alteration in the lipid composition of broodstock diets on egg quality in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L). *J. Fish Biol.*, **51**: 760-773.
- Navas, J.M., Thrush, M., Ramos, J., Bruce, M., Carrillo, M., Zanuy, S. & Bromage, N.** (1996). The effect of seasonal alteration in the lipid composition if broodstock diets on egg quality in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Proc. V Int. Symp. Rep. Physiol. Fish. Austin, TX, 2-8 July 1995, 108-110.
- Nelson, G.B. & Mc Pherson, R.** (1987) A comparison of seasonal lipid changes in two populations of brook char (*Salvelinus fontinalis*). *American Midland Naturalist*, **117**: 139-147.
- Nettleton, J.A. & Exler, J.** (1992). Nutrients in wild and farmed fish and shellfish. *J. Food Sci.*, **57**: 257-260.
- Ng, T.B. & Idler, D.R.** (1983). Yolk formation and differentiation in teleost fishes. In *Fish Physiology*, vol IXA (Hoar, W.S., Randall, D.J. & Donaldson, E.M. eds). Academic Press, New York, 373-404.
- Nissen, H.P. & Kreysel, H.W.** (1983). Polyunsaturated fatty acids in relation to sperm motility. *Andrologia*, **15**: 264-269.
- Nomura, T., Ogata, H. & Hata, M.** (1973). Occurrence of prostaglandins in fish testis. *Tohoku J. Agric. Res.*, **21**: 138-144.
- Norberg, B. & Haux, C.** (1985). Induction, isolation and a characterization of the lipid content of plasma vitellogenin from two salmo species: rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and sea trout (*Salmo trutta*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **81B**: 869-876.
- Nortvedt, R. & Tuene, S.** (1998). Body weight and sensory assessment of three weight groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed three pellet sizes and three dietary fat levels. *Aquaculture*, **161**: 295-313.
- Nunez Rodriguez, J. & Le Menn, F.** (1986). Vitellogenesis in a teleost fish: the sole (*Solea vulgaris* L.). In *Reproduction in fish. Basic and applied aspects in endocrinology and genetics*. Les colloques de l'INRA, **44**: Ed. INRA, Paris 1988.
- Ogino, C. & Saito, K.** (1970). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **36**: 250.
- Pacoli, C.Q., Grizzle, J.M. & Bradley, J.T.** (1991). Immunohistochemical localization of vitellogenin and associated morphologic changes in hepatocytes of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Can. J. Zool.*, **69**: 7-14.
- Parrish, C.C., Yang, Z., Wells, J.S., Castell, J.D. & Brown, J.A.** (1995). Egg fatty

- acid composition of captive Atlantic halibut, (*Hippoglossus hippoglossus*), in relation to larval survival. In Larvi' 95 - Fish and shellfish larviculture symposium (Lavens, P., Jaspers, E. & Roelants, I., eds.) European Aquaculture Society, Special Publication, 24, Gent, Belgium, 30-33.
- Pelster, B., Bailey, J.R. & Driedzic W.R.** (1997). The fate of 14C infused into the swim bladder of the American eel (*Anguilla rostrata*). *Can. J. Zool.*, **75**: 116-121.
- Penrith, M.L., Bastianello, S.S. & Penrith, M.J.** (1994). Hepatic lipoidosis and fatty infiltration of organs in a captive African stonefish, (*Synanceja verrucosa* Bloch & Schneider). *Journal of Fish Diseases*, **17**: 171-176.
- Peres & Oliva-Teles** (1999). Influence of temperature on protein utilization in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, **170**: 373-348.
- Peute, J., Van der Graag, M.A. & Lambert, J.G.D.** (1978). Ultrastructure and lipid content of the liver of the zebrafish (*Brachydanio rerio*) related to vitellogenin synthesis. *Cell. Tiss. Res.*, **186**: 297-308.
- Phillips, A.M., Jr.** (1969). Nutrition, digestion and energy utilization. 391-432. In: Fish Physiology (eds Hoar, W.S. & Randall, D.J.), vol I. Academic Press Inc., New York.
- Poncin, P.** (1995). Reproduction des poissons de nos rivières. *Cahier d'éthologie Supplément au volume 15*: 1-80.
- Rawn, J.D.** (1990). *Traité de Biochimie*. De Boeck Université, Belgium, 1146 p.
- Reinitz, G.L., Orme, L.E., Lemm, C.A. & Hitzel, F.N.** (1978). Influence of varying lipid concentration with two protein concentrations in diets for rainbow trout (*Salmo gairdneri*) *Trans. Am. Fish. Soc.*, **107**: 751-754.
- Richard, M.J., Holck, J.T. & Beitz, D.C.** (1989). Lipogenesis in the liver and adipose tissues of the domestic cat (*Felis domestica*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **93B**: 561-564.
- Rinchar, J.** (1996). Etude comparative de la reproduction chez les poissons à pontes unique et multiples. Presses Universitaires de Namur. 389p.
- Rinchar, J. & Kestemont, P.** (1996). Comparative study of reproductive biology in single- and multiple-spawner cyprinid fish. I. Morphological and histological features. *J. Fish Biol.*, **49**: 883-894.
- Ringrose, R.C.** (1971). *J. Fish. Res. Board Can.*, **28**: 1113.
- Robaina, L., Izquierdo, M.S., Moyano, F.J., Socorro, J., Vergara, J.M., Montero, D.** (1995). Soybean and lupin seed meals as protein sources in diet of gilthead seabream (*Sparus aurata*): nutritional and histological implications. *Aquaculture*, **130**: 219-233.
- Robaina, L., Izquierdo, M.S., Moyano, F.J., Socorro, J., Vergara, J.M., Montero, D.** (1998). Increase of the dietary n-3/n-6 fatty acids ratio and addition of phosphorus improves liver histological alteration induced by feeding diets containing soybean meal to gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, **161**: 281-293.
- Robinson, J.S. & Mead, J.F.** (1973). Lipid absorption and deposition in rainbow trout (*salmo gairdneri*). *Can. J. Biochem.*, **51**: 1050-1058.
- Rowley, A.F., Knight, J., Lloyd-Evans, P., Holland, J.W. & Vickerq, P.J.** (1995). Eicosanoid and their role in immune modulation in fish a brief overview. *Fish Shellfish Immun.*, **5**: 549-567.
- Sabaut, J.J. & Luquet, P.** (1973). *Mar. Biol.*, **18**: 50.
- Sand, O., Petersen, I.M. & Korsgaard-Emmersen, B.** (1980). Changes in some carbohydrates metabolizing enzymes and glycogen in liver, glucose and lipid in serum during vitellogenesis and after induction by estradiol-17 β in the flounder (*Platichthys flesus* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **65B**: 372-332.

- Sand, D.M., Rahn, C.H. & Schlenk, H.** (1973). Wax esters in fish: absorption and metabolism of oleyl alcohol in the gourami (*Trichogaster cosby*). *J.Nutr.*, **103**: 600-607.
- Santos, A.J.G., Furukawa, K., Kobayashi, M., Bando, K., Aida, K. & Hanyu, I.** (1986). Plasma gonadotropin and steroid hormone profiles during ovulation in the carp (*Cyprinus carpio*). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **52**: 1159-1166.
- Sargent, J.R.** (1995). Origins and function of eggs lipids: Nutritional implications.- *In*: Bromage, N.R. & Roberts, R.J. (eds.): Broodstock management and egg and larval quality in fish: 353-372. Blackwell Science, Oxford.
- Sargent, J.R. & Whittle, K.J.** (1981). Lipids and hydrocarbons in the marine food web. *In*: Lonhurst, A.R. (ed.). Analyses of marine ecosystems. Academic Press, London, 491-533.
- Sargent, J.R., Bell, J.G., Bell, M.V., Henderson, R.J. & Tocher, D.R.** (1993). The metabolism of phospholipids and polyunsaturated fatty acids in fish. *In*: Aquaculture: Fundamental and Applied Research (Lahlou, B. & Vitello, P., eds), 103-124. American Geophysical Union, Washington D.C.
- Sargent, J.R., Bell, M.V., Bell, J.G., Henderson, R.J. & Tocher, D.R.** (1995). Origins and functions of n-3 polyunsaturated fatty acids in marine organisms. *In*: Phospholipids: Characterisation, Metabolism and Novel Biological Applications. (Ceve, G. & Paltauf, F., eds.). 248-259. American Oil Chemical Society Press: Champaign, IL.
- Sargent, J.R., Henderson, R.J. & Tocher, D.R.** (1989). The lipids. *In*: Fish nutrition (Halver, J., eds.), 153-218. Academic Press, New York.
- Sasayama, Y. & Takahashi, H.** (1972). Effect of starvation and unilateral astration in male goldfish, (*Carassius auratus*), and a design of bioassay for fish gonadotropin using starved goldfish. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.*, **22**: 267-283.
- Satia, B.P.** (1973). Quantitative protein requirements of rainbow trout. *Prog. Fish. Cult.*, **36**: 80-85.
- Satoh, S., Takeuchi, T. & Watanabe, T.** (1984). Effects of starvation and environmental temperature on proximate and fatty acid compositions of *Tilapia nilotica*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **50**: 79-84.
- Selman, K. & Wallace, R.A.** (1981). Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zool Sci.*, **6**: 211-231.
- Selman, K. & Wallace, R.A.** (1982). Oocyte growth in the sheephead minnow: uptake of exogenous proteins by vitellogenic oocytes. *Tiss. Cell*, **14**: 555-571.
- Shatunavskiy, I.M.** (1971). *J. Ichtyol.*, **11**: 790-798.
- Sheikh-Eldin, M., De Silva, S.S., Anderson, T.A. & Gooley, G.** (1995). Physical characteristics, and proximate composition of oocyte, liver and muscle of wild caught and tank-reared Macquarie perch. *Aquacult. Int.*, **3**: 172-185.
- Sheridan, M.A.** (1988). Lipid dynamics in fish: aspects of absorption, transportation, deposition and mobilisation. *Comp. Biochem. Physiol.*, **90B**: 679-690.
- Sheridan, M.A., Allen, W.V. & Herstetter, T.H.** (1983). Seasonal variations in the lipid composition of the steelhead trout, (*Salmo gairdneri*) Richardson, associated with the parr-smolt transformation. *J.Fish.Biol.*, **23**: 125-134.
- Silversand, C. & Haux, C.** (1995). Fatty acid composition of vitellogenin from four teleost species. *J. Comp. Physiol. B*, **164**: 593-599.
- Singh, P.B. & Singh T.P.** (1990). Seasonal correlative changes between sex steroids and lipid levels in the freshwater female catfish (*Heteropneustes fossilis*) Bloch. *J. Fish Biol.*, **37**: 793-802.
- Smith, R.L. & Paul, A.J.** (1990). Seasonal changes in energy and energy cost of

- spawning in Gulf of Alaska Pacific cod. *J. Fish Biol.*, **36**: 307-316.
- Smith, C.E., Osborne, M.D., Piper, R.G. & Dwyer, W.P.** (1979). *Prog. Fish. Cult.* **41**: 185-188.
- Somerton, D.C., Parrish, C.C., Zhu, P. & Brown, J.A.** (1995). Changes in Atlantic halibut, (*Hippoglossus hippoglossus*), egg size, egg lipid content, and fertilization success within and among spawning seasons.- In Lavens, P. Jaspers, E. & Roelants, (eds): Larvi' 95 - Fish and shellfish larviculture symposium. European Aquaculture Society, Special Publication, 24, Gent, Belgium, 35-38.
- Sorensen, P.W. & Goetz, F.W.** (1993). Pheromonal and reproductive function of F-prostaglandins and their metabolites in teleost fish. *J. Lipid Mediators*, **6**: 385-393.
- Spisni, E., Tugnoli, M., Ponticelli, A., Mordenti, T. & Tomasi, V.** (1998). Hepatic steatosis in artificially fed marine teleosts. *Journal of Fish Diseases*, **21**: 177-184.
- Stacey, N.E. & Goetz, F.W.** (1982). Role of prostaglandins in fish reproduction. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39**: 92-98.
- Sterling, R.P.** (1976). Effects of experimental feeding and starvation on the proximate composition of the European bass (*Dicentrarchus labrax*). *Mar.Biol.*, **34**: 85-91.
- Stevens, A. & Lowe, J.** (1997). Histologie humaine. De Boeck Université, Belgium, 408 p.
- Stickney, R.R. & Andrews, J.W.** (1972). Effects of dietary lipids on growth, food conversion, lipid and fatty acid composition of channel catfish. *J. Nutr.*, **102**: 249-257.
- Stickney, R.R. McGeachin, R.B., Lewis, D.H. & Marks, J.** (1983). *Trans. Am. Fish. Soc.*, **112**: 665-669.
- Sulistyo, I.** (1998). Contribution à l'étude et à la maîtrise du cycle de reproduction de la perche eurasiennne (*Perca fluviatilis* L.). Thèse, Université Henri Poincaré, Nancy-1, France, 145 p.
- Sulistyo, I., Fontaine, P., Rinchar, J., Gardeur, J-N., Migaud, H., Capdeville, B. & Kestemont, P.** (2000), Reproductive cycle and plasma levels of steroids in male Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquat. Living Resour.*, **13** (2): 99-106.
- Sulistyo, I., Rinchar, J., Fontaine, P., Gardeur, J-N., Capdeville, B. & Kestemont, P.** (1998), Reproductive cycle and plasma levels of sex steroids in female Eurasian perch (*Perca fluviatilis*). *Aquat. Living Resour.*, **11** (2): 101-110.
- Takama, K., Love, R.M. & Smith, G.L.** (1985). Selectivity in mobilisation of stored fatty acids by maturing cod (*Gadus morhua* L.) *Comp. Biochem. Physiol.*, **80B**: 713-718.
- Takeuchi, T. & Watanabe, T.** (1977). *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.*, **43**: 541-551.
- Takeuchi, T., Arai, S., Watanabe, T. & Shimma, Y.** (1980). Requirement of eel (*Anguilla japonica*) for essential fatty acid. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **46**: 345-353.
- Takeuchi, T., Watanabe, T. & Nose, T.** (1979c). Requirement for essential fatty acid of chum salmon (*Oncorhynchus keta*). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **45**: 1319-1323.
- Takeuchi, T., Watanabe, T. & Ogino, C.** (1978a). Studies on nutritive value of dietary lipids in fish: XI Supplementary effect of lipid in a high protein diet of rainbow trout. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **44**: 677-681.
- Takeuchi, T., Watanabe, T. & Ogino, C.** (1979a). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **45**: 983.
- Takeuchi, T., Watanabe, T. & Ogino, C.** (1979b). *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **45**: 977-982.
- Takeuchi, T., Yokoyama, M., Watanabe, T. & Ogino, C.** (1978b). Optimum ratio of dietary energy to protein for rainbow trout. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **44**: 729-732.

- Tamazouzt, L.** (1995). L'alimentation artificielle de la perche (*Perca fluviatilis*) en milieux confinés (eau recyclée, cage flottante). Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré, Nancy-1, France, 128 p.
- Thorpe, J.E.** (1977). Daily ration of adult perch (*Perca fluviatilis* L.) during summer in Loch Leven, Scotland. *J. Fish Biol.*, **11** (1): 55-68.
- Thrush, M., Navas, J.M., Ramos, J., Bromage, N., Carrillo, M., Zanuy, S.** (1993). The effect of artificial diets on lipid class and total fatty acid composition of cultured sea bass (*Dicentrarchus labrax*) eggs. In: Cerviño, A., Landin, A., de Coe, A., Gerra, A., Torre, M. (eds.). Actas IV Congreso Nac. Acuicult. Isla de Arosa, Spain, 37-42.
- Tocher, D.R. & Harvie, D.G.** (1988). *Fish Physiol. Biochem.*, **5**: 229-239.
- Tocher, D.R. & Sargent, J.R.** (1984). Studies on triacylglycerol, wax ester and sterol ester hydrolases in intestinal caeca of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed diets rich in triacylglycerols and wax esters. *Comp. Biochem. Physiol.*, **77B**: 561-571.
- Treasurer, J.W.** (1981). Some aspects of the reproductive biology of perch (*Perca fluviatilis* L.): Fecundity, maturation and spawning behaviour. *J. Fish Biol.*, **18**: 729-740.
- Treasurer, J.W., Holliday, F.G.T.** (1981) Some aspects of the reproductive biology of perch (*Perca fluviatilis* L.): A histological description of the reproductive cycle. *J. Fish Biol.*, **18**: 359-376.
- Tyler, C.R., Sumpter, J.P. & Bromage, N.R.** (1990a). An in vitro culture system for studying vitellogenic uptake into ovarian follicles of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Exp. Zool.*, **255**: 216-231.
- Tyler, C.R., Sumpter, J.P. & Handford, R.M.** (1990b). The dynamics of vitellogenin sequestration into vitellogenic ovarian follicles of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Fish Physiol. Biochem.*, **8**: 211-219.
- Van Bohemen, Ch. G., Lambert, J.G.D. & Peute, J.** (1981). Annual changes in plasma and liver in relation to vitellogenesis in the female rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. comp. Endocrinol.*, **44**: 94-107.
- Voss, A., Reinhart, M., Sankarappa, S. & Sprecher, H.** (1991). The metabolism of 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenoic acid in rat liver is independent of a 4-desaturase. *J. Biol. Chem.*, **266**: 19995-20000.
- Wallace, R.A.** (1985). Vitellogenesis and oocyte growth in nonmammalian vertebrates. In: Browder LW (eds) *Developmental biology*, vol 1. Plenum Press, New York, 127-177.
- Wallace, R.A. & Selman, K.** (1981). Cellular and dynamics aspects of oocyte growth in teleosts. *Amer. Zool.*, **21**: 325-343.
- Washburn, B.S.; Bruss, M.L.; Avery, E.H. & Freedland, R.A.** (1992). Effects of estrogen on whole animal and tissue glucose in female and male rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Am. J. Physiol.*, **32**: 1241-1247.
- Watanabe, T.** (1982). Lipid nutrition in fish. *Comp. Biochem. Physiol.*, **73B**: 3-15.
- Watanabe, T., Fujimura, T., Lee, M., Fukusho, K., Satoh, S. & Takeuchi, T.** (1991a). Effect of polar and nonpolar lipids from krill on quality of eggs of red sea bream (*Pagrus major*). *Bull. Japan. Soc. Sci. fish.* **57**: 695-698.
- Watanabe, T., Lee, M., Mizutani, J., Yamada, T., Satoh, S., Takeuchi, T., Yoshida, N., Kitada, T. & Arakawa, T.** (1991b). Effective components in cuttlefish meal and raw krill for improvement of quality of red sea bream (*Pagrus major*) eggs. *Bull. Japan. Soc. Sci. fish.*, **57**: 681-694.
- Watanabe, T., Takeuchi, T., Aito, M. & Nishimura, K.** (1984). Effect of low protein-high calory or essential fatty acid deficient diet on reproduction of rainbow trout. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **50**: 1207-1215.

- Watanabe, T., Takashima, F. & Ogino, C.** (1974a). Effect of dietary linoleate on fatty acid composition of lipids in rainbow trout. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **40**: 493-499.
- Watanabe, T., Takashima, F. & Ogino, C.** (1974b). Effect of dietary methyl linoleate on growth of rainbow trout. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **40**: 181-188.
- Weigand, M. & Idler, D.R.** (1982). *Can. J. Zool.*, **60**: 2683.
- West, G.** (1990). Methods of assessing ovarian development in fishes: a review. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, **41**: 199-222.
- Wiegand, M.D.** (1996). Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleosts fish. *Rev. Fish. Biol. Fish.*, **6**: 259-286.
- Wilson, A.C. & Williamson, I.P.** (1970). Fatty acid synthetase from the liver of the plaice (*Pleuronectes platessa*). *Biochem. J.*, **117**: 26-27.
- Wootton, R.J.** (1973). The effect of size of food ration on egg production in the female three-spined stickleback, (*Gasterosteus aculeatus* L). *J. Fish Biol.*, **5**: 89-96.
- Wootton, R.J.** (1990). Ecology of Teleost Fishes. Chapman & Hall, London. 159-195.
- Xu, X.L. & Kestemont, P.** (2002). Lipid metabolism and FA composition in tissues of Eurasian Perch (*Perca fluviatilis*) as influenced by dietary fats. *Lipids*, **37** : 297-304.
- Xu, X.L., Fontaine, P., Mélard, C. & Kestemont, P.** (2002). Effects of dietary fat levels on growth, feed efficiency and biochemical composition of Eurasian perch *Perca fluviatilis*. *Aquacult. Int.*, in press: 1-13.
- Yang, X. & Dick, T.A.** (1994). Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) differ in their growth and lipid metabolism in response to dietary polyunsaturated fatty acids. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **51**: 1392-1400.
- Yone, Y.** (1976). Proc. Int. Conf. *Aquacult. Nutr.*, **1st**: 39-64.
- Yoshikumi, M. & Nagahama, Y.** (1991). Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Bull.Inst. Zool. Academia*, **16**: 139-172.
- Yu, T.C. & Sinnhuber, R.O.** (1979). Effect of dietary (n-3) and (n-6) fatty acids on growth and feed conversion efficiency of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquaculture*, **16**: 31-38.
- Zeitoun, I.H., Ullrey, D.E., Halver, J.E., Tack, P.I. & Magee, W.T.** (1974). *J. Fish. Res. Board Can.*, **31**: 1145.

Annexes

Annexe 1:

Liste des espèces citées:

- Ablette** *Alburnus alburnus* Linnaeus, 1758.
Anguille américaine *Anguilla rostrata* Lesueur, 1817.
Anguille du Japon *Anguilla japonica* Temminck & Schlegel, 1847.
Ayu *Plecoglossus altivelis* Temminck & Schlegel, 1846.
Bar américain *Morone saxatilis* Walbaum, 1792.
Bar européen *Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758.
Black-bass à grande bouche *Micropterus salmoides* Lacépède, 1802.
Brème bordelière *Blicca björkna* Linnaeus, 1758.
Brochet *Esox lucius* Linnaeus, 1758.
Capelin *Mallotus villosus* Müller, 1776.
Carpe commune *Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758.
Daurade japonaise *Pagrus major* Temminck & Schlegel, 1843.
Daurade royale *Sparus auratus* Linnaeus, 1758.
Eglefin *Melanogrammus aeglefinus* Linnaeus, 1758.
Epinoche *Gasterosteus aculeatus* Linnaeus, 1758.
Flet *Platichthys flesus* Linnaeus, 1758.
Flétan *Hippoglossus hippoglossus* Linnaeus, 1758.
Gardon *Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758.
Goujon *Gobio gobio* Linnaeus, 1758.
Hareng *Clupea harengus* Linnaeus, 1758.
Loup de mer *Anarhichas lupus* Linnaeus, 1758.
Maquereau *Scomber scombrus* Linnaeus, 1758.
Morue *Gadus morhua* Linnaeus, 1758.
Perche commune *Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758.
Perche macquarie *Macquaria australasica* Cuvier, 1830.
Plie *Pleuronectes platessa* Linnaeus, 1758.
Poisson chat américain *Ictalurus punctatus* Rafinesque, 1818.
Poisson rouge *Carassius auratus* Linnaeus, 1758.
Saumon atlantique *Salmo salar* Linnaeus, 1758.
Saumon chinook *Oncorhynchus tshawytscha* Walbaum, 1792.
Saumon coho *Oncorhynchus kisutch* Walbaum, 1792.
Saumon sockeye *Oncorhynchus nerka* Walbaum, 1792.
Sole *Solea solea* Linnaeus, 1758.
Thon rouge du nord *Thunnus thynnus thynnus* Linnaeus, 1758.
Tilapia du Mozambique *Tilapia mossambica* Peters, 1852.
Tilapia du Nil *Tilapia nilotica* Linnaeus, 1758.
Tilapia Zilli *Tilapia zilli* Gervais, 1848.
Truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792.
Truite fario *Salmo trutta fario* Linnaeus, 1758.
Turbot *Psetta maxima* Linnaeus, 1758.
Vairon *Phoxinus phoxinus* Linnaeus, 1758.
Xénope *Xenopus laevis* Linnaeus, 1758 (amphibien de la famille des pipidés).
Zebrafish *Brachydanio rerio* Hamilton, 1822.

Annexe 2:

Liste des abréviations utilisées dans le texte:

AA:	Acide arachidonique (arachidonic acid).
ADP:	Adénosine diphosphate.
AGE:	Acides gras essentiels.
AMP_c:	Adénosine monophosphate cyclique.
ANOVA:	Analyse de la variance (Analysis of variance).
ARNm	Acide ribonucléique messenger
ATP:	Adénosine triphosphate.
BF₃:	Boron trifluoride.
C:	Coeur.
Cm	Corps myéloïdes
CoA:	Coenzyme A.
CUD:	Coefficient d'utilisation digestive.
Cy:	Cytoplasme.
DHA:	Acide docosahexaénoïque (docosahexaenoic acid).
E₂:	Oestradiol.
ED:	Energie digestible.
EPA:	Acide éicosapentaénoïque (eicosapentaenoic acid).
F:	Foie.
FADH₂:	Flavine adénine dinucléotide (forme réduite).
FAME:	Esters méthyliques d'acides gras (Fatty Acid Methyl Esters).
Fpo:	Follicule atrétique post-ovulatoire.
G:	Gonade.
GC:	Chromatographie en phase gazeuse (gas chromatography).
Gly:	Glycogène.
Gr:	Granulosa.
GrP:	Graisse périviscérale.
GV:	Globule de vitellus.
GVBD:	Rupture de la vésicule germinative (germinal vesicle breakdown).
HDL:	Lipoprotéine de forte densité (High density lipoprotein).
IGS:	Indice gonadosomatique.
IHS:	Indice hépatosomatique.
ILS:	Indice liposomatique.
IVS:	Indice viscérosomatique.
L:	Lipide.
LDL:	Lipoprotéine de faible densité (Low density lipoprotein).
LSD:	Plus petite différence significative (Least significant difference).
Lt:	Longueur totale.
M:	Mitochondrie.
N:	Noyau.
NAD⁺:	Nicotinamide adénine dinucléotide (forme oxydée).
NADH:	Nicotinamide adénine dinucléotide (forme réduite).
Nu:	Nucléole.
Op:	Ovocyte protoplasmique.
PD:	Protéine digestible.
PG:	Prostaglandine.
PPP:	Phosphore protéique plasmatique.
PUFA:	Acides gras polyinsaturés (Polyunsaturated Fatty Acids).
REL:	Réticulum endoplasmique lisse.
RER:	Réticulum endoplasmique rugueux.
Scy:	Spermatocyte.

Liste des abréviations (suite):

SgA:	Spermatogonie A.
SgB:	Spermatogonie B.
Spd:	Spermatide.
Spz:	Spermatozoïde.
TCA:	Cycle des acides tricarboxyliques (= cycle de Krebs).
TD:	Tube digestif.
Th:	Thèque.
V:	Vessie natatoire.
Vi:	Vitellus.
VLDL:	Lipoprotéine de très faible densité (Very Low density lipoprotein).
Vv:	Vésicule de vitellus.
Zr:	<i>Zona radiata</i> .
17α, 20β-P:	17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogestérone.

Annexe 3:

Mode opératoire pour la microscopie électronique:

- ✓ Préfixer les échantillons (cubes de maximum 1 mm³) durant 2H30 dans la glutaraldéhyde 2,5 % (Stocké dans la glace).
- ✓ Rincer les échantillons dans du tampon cacodylate 0,2 M, pH 7,4 (3 bains de 10 minutes).
- ✓ Placer les échantillons dans la solution d'osmium (1 bain d'1 heure).
- ✓ Rincer les échantillons dans du tampon cacodylate 0,1 M, pH 7,4 (3 bains de 30 minutes).
- ✓ Stocker les échantillons une nuit au frigo dans du tampon cacodylate 0,1 M, pH 7,4.
- ✓ Déshydrater les échantillons dans différents bains d'alcools:

Alcool 30 % (5 minutes).
Alcool 30 % (10 minutes).
Alcool 50 % (5 minutes).
Alcool 50 % (10 minutes).
Alcool 70 % (5 minutes).
Alcool 70 % (10 minutes).
Alcool 90 % (5 minutes).
Alcool 90 % (10 minutes).
Alcool absolu (4 bains de 15 minutes).

- ✓ Placer les échantillons dans l'oxyde de propylène (2 bains de 7 minutes 30).
- ✓ Placer les échantillons dans une solution (v/v) d'oxyde de propylène/épon (1 heure sur rotor à température ambiante).
- ✓ Placer les échantillons dans l'épon (1 heure sur rotor dans l'étuve à 37°C).
- ✓ Mise des échantillons en "flats".
- ✓ Mise des "flats" dans l'étuve (à température ascendante)

37°C pendant 1 nuit.
45°C durant 24 heures.
60°C durant 72 heures.

- ✓ Coupes "semi-fines" (2µm) à l'aide d'un microtome LKB.
- ✓ Coloration topographique des ces coupes au bleu de toluidine.
- ✓ Repérage des zones intéressantes.
- ✓ Coupe des "ultra-fines" à 500 Å à l'aide d'un ultratome LKB.
- ✓ Coloration des "ultra-fines" à l'acétate d'uranyl (durant 20 minutes) et au citrate de plomb (durant 5 minutes).

1) Préparation des produits pour la fixation:

1.1) Préparation de la glutaraldéhyde 5 %: (Travailler sous hotte, avec des gants)

Prendre 5 ml de glutaraldéhyde 50%.
Ajouter 45 ml d'eau bidistillée.
Mixer le tout au vortex.

1.2) Préparation de la glutaraldéhyde 2,5%:

1/2 glutaraldéhyde 5% + 1/2 cacodylate 0,2 M = glutaraldéhyde 2,5%.

2) Préparation des produits pour la fixation:

2.1) Solution de cacodylate 0,2 M: (Conserver au frigo. Travailler sous hotte, avec des gants).

Soit le: *Cacodylic acid sodium salt trihydrated* (C₂ H₆ As NaO₂ 3H₂O).

Poids moléculaire = 214,05 g/mol.

Peser 21,40 g d'acide cacodylique.

Ajouter 500 ml d'eau bidistillée.

Mixer la solution à l'aide d'un vortex.
Ajuster le pH à 7,4.

2.2) Cacodylate 0,1 M:

1/2 cacodylate 0,2 M + 1/2 eau bidistillée = cacodylate 0,1 M

2.3) Tétroxyde d'Osmium 2% (Os O₄): **(Bien fermer la bouteille et conserver au frigo à l'abri de la lumière. Travailler sous hotte, avec des gants).**

Couper l'ampoule d'acide osmique et la placer dans une petite bouteille brune.

Ajouter 50 ml d'eau bidistillée.

Passer le tout aux ultrasons durant 20 à 30 minutes pour dissoudre l'acide.

2.4) Osmium 1%:

1/2 OS O₄ 2% + cacodylate 0,2 M pH 7,4 = Osmium 1%.

Annexe 4:

Mode opératoire pour l'extraction des lipides totaux: méthode de Folch *et al.* (1957):

Les volumes utilisés ici correspondent aux proportions suivantes: 8 volumes de chloroforme, 4 volumes de méthanol et 3 volumes d'eau.

- ✓ Peser l'échantillon avant de le découper en petits morceaux, placer le tout dans un récipient pour broyer.
- ✓ Ajouter 25 ml de chloroforme pour HPLC.
- ✓ Broyer pendant 3 minutes.
- ✓ Ajouter 25 ml de méthanol et 25 ml de chloroforme.
- ✓ Broyer pendant 1 minute.
- ✓ Aspirer à travers un entonnoir de Buchner, en utilisant un papier filtre Whatman N°1.
- ✓ Rincer le filtre avec 2 ml de chloroforme et 2 ml de méthanol.
- ✓ Placer le filtra dans une ampoule à décanter.
- ✓ Ajouter 18,75 ml d'eau bidistillée/KCL à 0,88 %, insuffler de l'azote et agiter. Le tout décante pendant la nuit.

Le lendemain:

- ✓ Récupérer la phase inférieure dans un récipient (dont le fond contient 2 à 3 mm de sulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4)) insuffler de l'azote et réfrigérer 15 minutes.
- ✓ Peser un ballon de 100 ml (bien sec).
- ✓ Filtrer dans le ballon, la phase inférieure contenant le Na_2SO_4 , sur un filtre accordéon contenant du Na_2SO_4 .
- ✓ Rincer trois fois le récipient avec 10 ml de chloroforme pour HPLC.
- ✓ Insuffler de l'azote dans le ballon.
- ✓ Placer le ballon sur l'évaporateur rotatif ROTAVAPOR-R (Büchi) (Bain à 30°C et vitesse de rotation sur la position 1).
- ✓ Dès que l'évaporation du chloroforme cesse dans le ballon de réception, on ajoute 10 ml de chloroforme pour HPLC et 10 ml d'acétone absolu pour GC, à notre ballon de 100 ml.
- ✓ Insuffler de l'azote.
- ✓ Recommencer le processus d'évaporation sur l'évaporateur rotatif.
- ✓ Dès que l'évaporation est terminée, on sèche et on pèse le ballon.
- ✓ Les résidus d'huile obtenus sont stockés à - 20°C, sous azote, dans des bouteilles en verre bruns.

Le pourcentage de lipides totaux se trouve par la formule suivante:

$$\frac{\text{Poids de l'huile (g)}}{\text{Poids de la chair (g)}} \times 100 = \% \text{ de lipide totaux.}$$

Annexe 5:

Mode opératoire pour la préparation des FAME (Fatty Acid Methyl Esters): méthode de Tocher & Harvie (1988):

1) Accélération du catabolisme des acides gras:

- ✓ Ajouter 1,5 ml d'hexane pour HPLC et 1,5 ml de Boron trifluoride dans le méthanol 12 % (BF₃).
- ✓ Insuffler de l'azote et fermer le tube.
- ✓ Secouer énergiquement.
- ✓ Chauffer au bain marie (100°C) durant 1 heure.
- ✓ Laisser refroidir à température ambiante.

Remarque: si l'échantillon s'est évaporé, ne pas l'utiliser.

2) Nettoyage I:

- ✓ Ajouter 1 ml d'hexane pour HPLC et 2 ml d'eau distillée.
- ✓ Insuffler de l'azote.
- ✓ Agiter au vortex.
- ✓ Attendre la formation de 2 couches.
- ✓ Transférer à l'aide d'une pipette pasteur, la phase organique supérieure (lipide + hexane) dans un nouveau tube.
- ✓ Insuffler de l'azote dans ce tube et le fermer.
- ✓ Répéter 2 fois cette phase de nettoyage (en ajoutant seulement 1 ml d'hexane pour HPLC).
- ✓ Regrouper toutes les phases organiques dans un tube et insuffler de l'azote.

3) Nettoyage II, extraction de l'hexane:

- ✓ Ajouter 2 ml d'eau distillée et insuffler de l'azote.
- ✓ Agiter fortement au vortex.
- ✓ Attendre la formation de 2 couches.
- ✓ Préparer une pipette pasteur avec un peu de coton et de sulfate de sodium anhydre (Na₂ SO₄).
- ✓ Récupérer la phase supérieure et l'injecter dans ce filtre.
- ✓ Dès que la filtration est terminée, rincer ce filtre avec un peu d'hexane pour HPLC.

4) Phase de concentration:

- ✓ Afin d'évaporer l'hexane contenant les FAME, placer le tube ayant reçu le dernier filtra, sous un apport d'azote et ce jusqu'à l'obtention d'un volume de 1 à 1,5 ml maximum.
- ✓ Récupérer ce volume à l'aide d'une pipette pasteur et le stocker (sous azote), dans une bouteille brune à -20°C.

Annexe 6:

Mode opératoire pour la coloration des gonades femelles: le trichrome à froid (Langeron, 1942)

- ✓ Toluol (2 x 3 minutes).
- ✓ Méthanol (2 x 3 minutes).
- ✓ Méthanol 70% (3 minutes).
- ✓ Eau courante (10 minutes) **pour blanchir.**
- ✓ Bleu de Célestin (10 minutes) doit être filtré (filtre de diamètre 113µm).
- ✓ Rinçage rapide à l'eau courante.
- ✓ Hémalun (10 minutes) doit être filtré (filtre de diamètre 113µm).
- ✓ Eau courante.
- ✓ Ethanol-HCl (1 minute) **pour différencier.**
- ✓ Eau courante (10 minutes) **pour bleuir.**
- ✓ Phloxine B 0.5% dans eau distillée (5 minutes).
- ✓ Eau acétifiée à 1% (3 bains successifs).
- ✓ Acide phosphotungstique (1 minute) **pour différencier.**
- ✓ Eau courante (5 minutes MAXIMUM) **pour rincer.**
- ✓ ½ volume de Vert lumière + ½ volume d'eau acétifiée (2 minutes 30 secondes).
- ✓ Eau acétifiée à 1% (3 bains successifs) **pour rincer.**
- ✓ Isopropanol (3 bains successifs).
- ✓ Toluol (3 bains successifs).
- ✓ Monter la préparation au DPX, en évitant les bulles d'air.
- ✓ Poser les lames sur une surface plane avec un petit poids sur la lame couvre objet.

1) Préparation des différentes solutions pour le trichrome à froid:

1.1) Bleu Célestin: (Toujours filtrer avant l'emploi).

Dissoudre 5 g d'Alun de fer (Merck 3776) dans 100 ml d'eau.
Faire bouillir 3 minutes.
Laisser refroidir légèrement.
Ajouter 0,5 g de bleu célestin (Edward Gurr michrome 66).
Filtrer.
Ajouter 14 ml de glycérine (Merck 4094).

1.2) Hémalun: (Ne pas conserver plus de deux mois et filtrer avant l'emploi).

Porter à ébullition un litre d'une solution saturée d'alun de potassium (Merck 1047) dans un litre d'eau distillée.
Retirer de la source chauffante et ajouter lentement (par petite dose, surtout au début) 3 g d'Hématéin Standard Fluka.
Laisser bouillir.
Refroidir.
Filtrer et ajouter 20 ml d'acide acétique glacial (Merck 60).

1.3) Ethanol-HCl:

Alcool éthylique 95° dénaturé à l'éther 100 ml.
HCl fumant (Merck 317) 0,4 ml.

1.4) Phloxine:

Phloxine B à 0,5% dans de l'eau distillée.

1.5) Acide phosphotungstique:

Acide phosphotungstique 5 g.
Eau distillée 100 ml.

1.6) Vert lumière:

Dissoudre 1 g de Light green SF yellowfish (National Aniline Division) dans 100 ml d'eau acétifiée à 1%.

Annexe 7:

Mode opératoire pour la coloration des gonades mâles: le trichrome à chaud (Langeron, 1942)

- ✓ Toluol (2 x 3 minutes).
- ✓ Méthanol (2 x 3 minutes).
- ✓ Méthanol 70% (3 minutes).
- ✓ Eau courante (10 minutes) **pour blanchir.**
- ✓ Alun de fer à 5% (5 minutes à 57°C).
- ✓ Rinçage à l'eau distillée (à 57°C).
- ✓ Hématoxiline de Regaud (5 minutes MAXIMUM. A 57°C).
- ✓ Rinçage à l'eau distillée (froide).
- ✓ Alcool picrique (30 secondes) **pour différencier.**
- ✓ Eau courante (10 minutes) **pour rincer.**
- ✓ Solution de rouge (5 minutes). 1/10 de solution pour 9/10 d'eau acétifiée.
- ✓ Eau acétifiée à 1% (2 bains successifs).
- ✓ Acide phosphotungstique 5% (1 minute) **pour différencier.**
- ✓ Vert lumière (4 minutes). 1/10 de solution pour 9/10 d'eau acétifiée.
- ✓ Eau acétifiée à 1% (2 bains successifs) **pour rincer.**
- ✓ Isoprano (3 bains successifs).
- ✓ Toluol (3 bains successifs).
- ✓ Monter la préparation au DPX en évitant les bulles d'air.
- ✓ Poser les lames sur une surface plane avec un petit poids sur la lame couvre objet.

1) Préparation des différentes solutions pour le trichrome à chaud:

1.1) Alun de fer:

Dissoudre 5 g d'Alun de Fer amoniaqué (Merck) dans 100 ml d'eau bidistillée.

1.2) Hématoxiline de Regaud:

Dissoudre 1 g d'hématoxyline (Merck 4305) dans 80 ml d'eau distillée (chauffer éventuellement). Laisser refroidir. Ajouter 10 ml de Glycérine (Merck 4094) et 10 ml d'alcool éthylique absolu.

1.3) Solution de rouge:

Ponceaufuschine.

1.4) Acide phosphotungstique:

Acide phosphotungstique 5 g.
Eau distillée 100 ml.

1.5) Vert lumière:

Dissoudre 1 g de Light green SF yellowfish (National Aniline Division) dans 100 ml d'eau acétifiée à 1%.

Annexe 8:

Mode opératoire pour l'extraction des lipides totaux: méthode de Bligh & Dyer (1959):

Les volumes utilisés ici correspondent aux proportions suivantes: 10 volumes de chloroforme, 10 volumes de méthanol et 9 volumes d'eau.

- ✓ Peser l'échantillon avant de le découper en petits morceaux, placer le tout dans un récipient pour broyer.
- ✓ Ajouter 50 ml de chloroforme pour HPLC.
- ✓ Ajouter 100 ml de méthanol.
- ✓ Insuffler de l'azote au mélange chair/solvants.
- ✓ Broyer pendant 3 minutes.
- ✓ Ajouter 50 ml de chloroforme.
- ✓ Insuffler de l'azote.
- ✓ Broyer pendant 1 minute.
- ✓ Aspirer à travers un entonnoir de Buchner, en utilisant un papier filtre Whatman N°1.
- ✓ Rincer le filtre avec un peu de chloroforme.
- ✓ Placer le filtra dans une ampoule à décanter.
- ✓ Ajouter 90 ml d'eau bidistillée/KCl à 0,88% (tenir compte des 80 % d'eau contenu par les filets), insuffler de l'azote et agiter. Le tout décante pendant la nuit.

Le lendemain:

- ✓ Récupérer la phase inférieure dans un récipient (dont le fond contient 2 à 3 mm desulfate de sodium anhydre (Na_2SO_4)), insuffler de l'azote et réfrigérer 15 minutes.
- ✓ Peser un ballon de 100 ml (bien sec).
- ✓ Filtrer dans le ballon, la phase inférieure contenant le Na_2SO_4 , sur un filtre accordéon contenant du Na_2SO_4 .
- ✓ Rincer trois fois le récipient avec 10 ml de chloroforme pour HPLC.
- ✓ Insuffler de l'azote dans le ballon .
- ✓ Placer le ballon sur l'évaporateur rotatif ROTAVAPOR-R (Büchi) (Bain à 30°C et vitesse de rotation de 1). Dès que l'évaporation du chloroforme cesse dans le ballon de réception, on ajoute 10 ml de chloroforme pour HPLC et 10 ml d'acétone absolu, pour GC.
- ✓ Insuffler de l'azote.
- ✓ Recommencer le processus d'évaporation sur l'évaporateur rotatif
- ✓ Dès que l'évaporation est terminée, on sèche et on pèse le ballon.
- ✓ Les résidus d'huile obtenus sont stockés à - 20°C, sous azote, dans des bouteilles en verre bruns.

Le pourcentage de lipides totaux se trouve par la formule suivante:

$$\frac{\text{Poids de l'huile de Bligh \& Dyer (g)}}{\text{Poids de la chair (g)}} \times 100 = \% \text{ de lipide.}$$

Annexe 9:

Dates, lieux des pêches et caractéristiques morphologiques des poissons pêchés

	Date	Origine	Numéros	Sexe	Pds. poissons (g)	Lt. poissons (mm)	Pds. Foie (g)	Pds. gonades (g)	Pds. Graisses périviscérales (g)
1	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.1.0	M	204	256	1,580	0,614	0,161
2	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.2.0	F	95	195	0,882	0,350	2,03
3	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.3.0	F	155	233	1,098	1,058	4,161
4	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.4.0	M	58	170	0,417	0,117	0,647
5	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.5.0	M	101	200	0,930	0,379	1,038
6	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.6.0	M	136	224	1,211	0,224	1,548
7	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.7.0	F	194	252	1,706	1,172	1,334
8	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.8.0	M	115	217	1,266	0,125	2,195
9	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.9.0	M	50	165	0,616	0,042	0,599
10	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.10.0	F	130	222	1,107	0,911	2,071
11	02/08/2001	Tailfer & Jambes	2821.11.0	F	123	221	1,074	0,701	0,329
12	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.1.0	F	180	245	1,035	1,286	1,759
13	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.2.0	F	141	210	1,688	1,008	1,597
14	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.3.0	F	216	257	2,122	1,234	5,018
15	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.4.0	F	153	217	1,759	0,901	2,899
16	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.5.0	F	165	235	1,886	1,555	2,055
17	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.6.0	F	130	212	1,248	0,704	2,705
18	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.7.0	M	75	185	0,842	0,427	0,409
19	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.8.0	F	288	290	2,108	2,486	2,396
20	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.9.0	F	75	185	0,564	0,279	0,885
21*	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.10.0	M & F	94	190	0,905	0,054	1,57
22	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.11.0	F	109	200	1,591	0,416	1,775
23	14/08/2001	Rivière et Tailfer	14821.12.1	F	124	214	1,012	1,158	4,272
24	23/10/2001	Tailfer	231021.1.0	F	264	255	2,298	13,360	2,690
25	23/10/2001	Tailfer	231021.2.0	F	166	225	1,830	0,580	1,980
26	23/10/2001	Tailfer	231021.3.0	F	281	280	3,500	15,360	1,420
27	23/10/2001	Tailfer	231021.4.0	M	247	265	2,130	15,140	0,800
28	29/10/2001	Tailfer	291021.1.0	M	320	290	2,620	17,610	0,090
29	29/10/2001	Tailfer	291021.2.0	F	715	370	8,060	56,570	4,580
30	29/10/2001	Tailfer	291021.3.0	F	213	257	2,190	16,150	0,290
31	29/10/2001	Tailfer	291021.4.0	F	265	260	3,590	15,780	5,000
32	29/10/2001	Tailfer	291021.5.0	F	254	260	2,930	19,020	1,960
33	29/10/2001	Tailfer	291021.6.0	F	215	251	2,340	18,750	1,270
34	29/10/2001	Tailfer	291021.7.0	M	256	261	4,44	16,010	3,210
35	29/10/2001	Tailfer	291021.8.0	F	201	240	2,55	14,74	1,86
36	29/10/2001	Tailfer	291021.9.0	F	460	330	4,16	23,5	1,59
37	29/10/2001	Tailfer	291021.10.0	F	185	245	2,25	14,37	0
38	29/10/2001	Tailfer	291021.11.0	F	295	275	3,09	18	1,13
39	13/02/2002	Tailfer	13222.1.0	F	234	255	3,270	38,870	0,000
40	13/02/2002	Tailfer	13222.2.0	F	260	255	3,750	28,060	3,100
41	13/02/2002	Tailfer	13222.3.0	F	940	370	15,650	144,000	16,750
42	13/02/2002	Tailfer	13222.4.0	F	825	385	8,140	125,000	3,520
43	13/02/2002	Tailfer	13222.5.0	F	1037	415	15,260	179,000	2,680
44	13/02/2002	Tailfer	13222.6.0	M	179	245	1,550	10,420	0,048
45	13/02/2002	Tailfer	13222.7.0	M	226	250	2,310	17,920	0,570
46	13/02/2002	Tailfer	13222.8.0	F	335	284	5,040	58,300	1,500
47	19/03/2002	Tailfer	190322.1.0	F	280	272	4,140	58,380	0,000
48	19/03/2002	Tailfer	190322.2.0	F	510	325	6,900	106,000	1,630
49	19/03/2002	Tailfer	190322.3.0	M	192	252	2,710	11,150	1,140
50	19/03/2002	Tailfer	190322.4.0	M	201	258	2,960	8,740	0,480
51	19/03/2002	Tailfer	190322.5.0	M	201	254	2,190	9,360	0,650

	Date	Origine	Numéros	Sexe	Pds. poissons (g)	Lt. poissons (mm)	Pds. Foie (g)	Pds. gonades (g)	Pds. Graisses périviscérales (g)
52	19/03/2002	Tailfer	190322.6.0	F	280	272	3,500	56,990	0,380
53	19/03/2002	Tailfer	190322.7.0	F	135	235	1,200	0,380	4,630
54	19/03/2002	Tailfer	190322.8.0	F	188	237	3,030	36,010	0,420
55	19/03/2002	Tailfer	190322.9.0	F	309	280	3,600	69,010	0,600
56	15/04/2002	Tailfer	15422.1.0	F	231	250	2,180	61,330	0,000
57	15/04/2002	Tailfer	15422.2.0	F	326	275	2,620	87,640	0,535
58	15/04/2002	Tailfer	15422.3.0	F	471	290	4,190	105,770	2,640
59**	15/04/2002	Tailfer	15422.4.0	F	208	260	2,720	7,900	0,250
60	15/04/2002	Tailfer	15422.5.0	M	190	246	2,94	2,300	0,210
61	15/04/2002	Tailfer	15422.6.0	M	187	244	1,980	4,200	0,310
62	15/04/2002	Tailfer	15422.7.0	M	256	274	2,280	14,720	0,180
63	15/04/2002	Tailfer	15422.8.0	M	213	260	2,420	9,890	0,000
64	15/04/2002	Tailfer	15422.9.0	F	537	335	8,830	82,900	2,340
65	15/04/2002	Tailfer	15422.10.0	F	280	276	4,19	128	1,76
66	15/04/2002	Tailfer	15422.11.0	F	381	310	6,18	114	0,65

* : perche hermaphrodite.

** : perche ayant déjà pondu. Elle n'est donc pas prise en compte dans le calcul des indices morphométriques du mois d'avril.

Remarque: tous ces poissons ont été utilisés pour le calcul des différents indices morphométriques (IGS, IHS, ILS).

■ : Les poissons, présentés en grisés, sont ceux que nous avons utilisés pour les différents dosages (lipides et acides gras) ainsi que pour la microscopie optique des gonades.

Les poissons marqués en gras, ont en plus de la microscopie optique et des dosages, servi pour la microscopie électronique.

Annexe 10:

Résultats du test d'homogénéité des variances et de l'analyse de la variance à un critère (ANOVA 1) et à deux critères de classification (ANOVA 2) effectués sur l'indice liposomatique (ILS):

Mâles		Femelles		Femelles		Femelles	
Août	0,079	Août	2,137	Octobre	0,136	Mars	0,194
Août	1,116	Août	2,685	Octobre	1,887	Avril	0,000
Août	1,028	Août	0,688	Octobre	0,772	Avril	0,164
Août	1,138	Août	1,593	Octobre	0,591	Avril	0,561
Août	1,909	Août	0,267	Octobre	0,925	Avril	0,436
Août	1,198	Août	0,977	Octobre	0,346	Avril	0,629
Août	0,545	Août	1,133	Octobre	0,000	Avril	0,171
Octobre	0,324	Août	2,323	Octobre	0,383		
Octobre	0,028	Août	1,895	Février	0,000		
Octobre	1,254	Août	1,245	Février	1,192		
Février	0,027	Août	2,081	Février	1,782		
Février	0,252	Août	0,832	Février	0,427		
Mars	0,594	Août	1,180	Février	0,258		
Mars	0,239	Août	1,628	Février	0,448		
Mars	0,323	Août	3,445	Mars	0,000		
Avril	0,111	Octobre	1,019	Mars	0,320		
Avril	0,166	Octobre	1,193	Mars	0,136		
Avril	0,070	Octobre	0,505	Mars	3,430		
Avril	0,000	Octobre	0,641	Mars	0,223		

	Mâles	Femelles
Moyenne	0,547	0,953
ddl	19	45
Ecart-type	0,557	0,885
Variance	0,310	0,783
SCE	5,587	34,459

Test d'égalité des variances		
Ho = les variances sont homogènes		
Fobs	2,523	
k1	44	
k2	18	
alpha	0,05	
Fk1;k2;1-alpha/2	2,35	(table F de Snedecor)
Puisque F obs > F table, => Pr (Ho soit vraie) > 5% RHo		

Test de comparaison de moyennes à variance égales : t-test		
Ho : mâles = femelles		
tobs	1,844	
ddl	62	
alpha	0,05	
t ddl;1-alpha/2	2	(table t de Student)
Puisque t obs < t table, => Pr (Ho soit vraie) > 5% AHo		

Nous n'avons pas pu mettre en évidence de différences significatives entre les deux sexes

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	22	0,644	13,519	-9,248
	15	0,270	3,779	-18,333
	8	0,387	2,706	-6,654
	9	1,147	9,174	1,096
	10	0,058	0,522	-25,626
Totaux	64		29,70	-58,765

Annexes

Variance résiduelle = 29,70 / 59 = 0,503
ln variance résiduelle. = -0,687
Chi²obs = 18,269
Chi² tables 0,95 = 9,49 **Rho**
 Nous ne pouvons pas conclure, à l'égalité des variances.

Analyse de la variance à deux critères de classification:

Tous les effets: variable dépendante: ILS, variables indépendantes: sexes et mois.

	df	MS	Df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	4	2,468	54	0,501	4,93	0,002
Sexes	1	1,611	54	0,501	3,219	0,078
Mois et sexes	4	0,109	54	0,501	0,218	0,927

Test de Scheffé; variable dépendante ILS, variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
Août {1}	1,305	0,6175	0,412	0,551	0,207
Octobre {2}	0,093	0,0931	0,067	0,14	0,005
Février {3}	0,067	0,9785	0,978	1	0,731
Mars {4}	0,14	0,9997	0,997	0,997	0,984
Avril {5}	0,005	0,7315	0,984	0,889	

Nous mettons en évidence une différence significative entre le mois d'août et le mois d'avril.

Analyse de la variance à un critère de classification:

Testons les mâles entre eux:

Tous les effets: variable dépendante: ILS, variable indépendante: mois

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	4	0,677	14	0,206	3,289	0,043

Test LSD: variable dépendante: ILS, variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
Août {1}	1,002	0,535	0,140	0,385	0,087
Octobre {2}	0,158	0,158	0,033	0,069	0,006
Février {3}	0,033	0,355	0,355	0,692	0,216
Mars {4}	0,069	0,692	0,562	0,562	0,895
Avril {5}	0,006	0,216	0,895	0,403	0,403

Nous avons mis en évidence une différence significative entre: février et août, avril et août.

Testons les femelles entre elles:

Tous les effets: variable dépendante: ILS, variable indépendante: mois

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	4	2,578	40	0,604	4,27	0,006

Test LSD: variable dépendante: ILS, variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
Août {1}	1,607	0,7	0,685	0,717	0,327
Octobre {2}	0,004	0,004	0,018	0,023	0,001
Février {3}	0,018	0,969	0,969	0,965	0,343
Mars {4}	0,023	0,965	0,942	0,942	0,43
Avril {5}	0,001	0,343	0,43	0,389	0,389

Nous avons mis en évidence une différence significative entre août et les 4 autres mois.

Annexe 11:

Résultats du test d'homogénéité des variances et de l'analyse de la variance à un critère (ANOVA 1) et à deux critères (ANOVA 2) de classification effectués sur les lipides totaux:

Remarque préliminaire: Tous les tests d'homogénéité des variances (Bartlett) ont été effectués. Nous ne présentons dans cette annexe que les tests ayant conduit à un rejet d'hypothèse nulle, à savoir l'inégalité des variances.

A) MUSCLES :

Mâles		Femelles		Femelles		Femelles	
Août	0,404	Août	0,787	Octobre	1,060	Mars	0,880
Août	0,257	Août	0,438	Février	0,115	Avril	0,783
Octobre	0,903	Août	0,406	Février	0,675	Avril	0,936
Octobre	0,783	Août	0,759	Février	1,037	Avril	0,801
Mars	0,864	Août	1,065	Mars	1,635	Avril	1,038
Mars	0,636	Octobre	0,830	Mars	1,200	Avril	0,873
Avril	0,857	Octobre	0,692	Mars	0,802		
Avril	1,285	Octobre	1,213	Mars	1,020		
Avril	0,868	Octobre	1,080	Mars	0,819		

	Mâles	Femelles
Moyenne	0,76	0,87
ddl	9	24
Ecart-type	0,301	0,302
Variance	0,090	0,091
SCE	0,72	2,09

<i>Test d'égalité des variances</i>		
Ho = les variances sont homogènes		
Fobs	1,007	
k1	23	
k2	8	
alpha	0,05	
Fk1;k2;1-alpha/2	4,00	(table F de Snedecor)
Puisque F obs < F table, => Pr (Ho soit vraie) > 5% AHo		

<i>Test de comparaison de moyennes à variance égales : t-test</i>		
Ho : mâles = femelles		
tobs	0,940	
ddl	31	
alpha	0,05	
t ddl;1-alpha/2	2,042	(table t de Student)
Puisque t obs < t table, => Pr (Ho soit vraie) > 5% AHo		

Il n'y a pas de différences significatives entre les mâles et les femelles, nous pouvons donc les regrouper par période et ainsi effectuer une ANOVA 1 pour mettre en évidence les différences entre périodes.

	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
	0,404	0,903	0,115	0,864	0,857
	0,257	0,783	0,675	0,636	1,285
	0,787	0,830	1,037	1,635	0,868
	0,438	0,692		1,200	0,783
	0,406	1,213		0,802	0,936
	0,759	1,080		1,020	0,801
	1,065	1,060		0,819	1,038
				0,880	0,873
ni	7	7	3	8	8
Somme	4,116	6,561	1,827	7,856	7,441
Moyenne	0,588	0,937	0,609	0,982	0,930
Variance	0,083	0,035	0,216	0,097	0,027
Ecart-type	0,287	0,186	0,465	0,311	0,164

Analyse de la variance à un critère de classification :

Tous les effets: variable dépendante: lipides totaux musculaires; variable indépendante: mois

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	4	0,224	28	0,072	3,136	0,030

Test LSD: variable dépendante: lipides totaux musculaires; variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
Août {1}	0,588	0,937	0,609	0,982	0,930
octobre {2}	0,021	0,021	0,910	0,008	0,020
Février {3}	0,910	0,086	0,086	0,749	0,959
Mars {4}	0,008	0,749	0,049	0,049	0,087
Avril {5}	0,020	0,959	0,087	0,701	0,701

Nous mettons en évidence une différence significative entre: août et octobre, août et mars, août et avril, février et mars.

B) FOIES :

1) Pourcentage de lipides totaux hépatiques:

Mâles		Femelles		Femelles	
Août	2,326	Août	3,490	Février	4,040
Août	5,882	Août	2,680	Mars	3,289
Août	6,700	Août	2,560	Mars	4,178
Août	11,007	Août	3,160	Mars	2,518
Octobre	3,704	Août	6,460	Mars	2,459
Octobre	3,982	Août	10,750	Mars	2,422
Octobre	3,581	Octobre	3,240	Avril	3,185
Février	5,560	Octobre	2,650	Avril	1,932
Février	0,490	Octobre	2,670	Avril	2,920
Mars	3,315	Octobre	2,990	Avril	2,432
Mars	2,727	Octobre	6,330	Avril	2,204
Mars	2,730	Février	2,990		
Avril	2,700	Février	5,930		
Avril	2,580	Février	2,700		
Avril	5,830	Février	4,500		

Annexes

	Mâles	Femelles
Moyenne	4,207	3,64
ddl	15	26
Ecart-type	2,505	1,894
Variance	6,274	3,588
SCE	87,832	89,702

<i>Test d'égalité des variances</i>		
Ho = les variances sont homogènes		
Fobs	1,748	
k1	25	
k2	14	
alpha	0,05	
Fk1;k2;1-alpha/2	2,95	(table F de Snedecor)
Puisque F obs < F table, => Pr (Ho soit vraie) > 5% AHo		

<i>Test de comparaison de moyennes à variance égales : t-test</i>		
Ho : mâles = femelles		
tobs	0,816	
ddl	39	
alpha	0,05	
t ddl;1-alpha/2	2,021	(table t de Student)
Puisque t obs < t table, => Pr (Ho soit vraie) > 5% AHo		

Il n'y a pas de différences significatives entre les mâles et les femelles (ce que confirme l'ANOVA2 ci-dessous), nous pouvons donc les regrouper par période et ainsi effectuer une ANOVA1 pour mettre en évidence les différences entre périodes.

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: lipides totaux hépatiques

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	4	10,618	31	4,188	2,535	0,060
Sexe	1	1,346	31	4,188	0,321	0,575
Mois et sexe	4	1,977	31	4,188	0,472	0,756

Il n'y a pas d'effets du sexe, des périodes et de l'interaction sexe/période.

	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
	2,326	3,704	5,556	3,315	2,703
	5,882	3,982	0,490	2,727	2,577
	6,700	3,581	2,990	2,732	5,825
	11,007	3,243	5,935	3,289	3,185
	3,488	2,652	2,703	4,178	1,932
	2,685	2,674	4,502	2,518	2,917
	2,564	2,994	4,044	2,459	2,432
	3,165	6,330		2,422	2,204
	6,457				
	10,749				
ni	10	8	7	8	8
Somme	55,023	29,159	26,219	23,641	23,774
Moyenne	5,502	3,645	3,746	2,955	2,972
Variance	10,723	1,406	3,498	0,366	1,483
Ecart-type	3,275	1,186	1,870	0,605	1,218

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	10	10,723	96,505	21,351
	8	1,406	9,845	2,388
	7	3,498	20,985	7,512
	8	0,366	2,560	-7,041
	8	1,483	10,380	2,758
Totaux	41		140,276	26,969

Variance résiduelle = $14,276 / 36 = 3,897$

ln variance résiduelle = 1,360

Chi² obs = 21,995

Chi² tables 0,95 = 9,490

Rho

Nous ne pouvons conclure à l'égalité des variances.

Analyse de la variance à un critère de classification :

Tous les effets: variable dépendante: lipides totaux hépatiques; variable indépendante: mois

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	4	10,072	36	3,897	2,585	0,053

Test LSD variable dépendante: lipides totaux hépatiques; variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
Août {1}	5,502	3,645	3,746	2,955	2,972
octobre {2}	0,055	0,055	0,079	0,010	0,010
Février {3}	0,079	0,922	0,922	0,489	0,500
Mars {4}	0,010	0,489	0,444	0,444	0,454
Avril {5}	0,010	0,500	0,454	0,987	0,987

Nous mettons en évidence une différence significative entre: août et mars, août et avril.

2) Gramme de lipides totaux hépatiques par gramme de poids corporel :

Mâles		Femelles		Femelles	
Août	0,065	Août	0,025	Février	0,060
Août	0,062	Août	0,024	Mars	0,049
Août	0,124	Août	0,022	Mars	0,057
Octobre	0,032	Août	0,018	Mars	0,031
Octobre	0,033	Août	0,077	Mars	0,040
Octobre	0,062	Août	0,123	Mars	0,028
Février	0,048	Octobre	0,033	Avril	0,030
Février	0,005	Octobre	0,031	Avril	0,016
Mars	0,047	Octobre	0,027	Avril	0,038
Mars	0,040	Octobre	0,439	Avril	0,036
Mars	0,030	Octobre	0,033	Avril	0,036
Avril	0,042	Février	0,042		
Avril	0,023	Février	0,086		
Avril	0,066	Février	0,045		
		Février	0,044		

Tous les effets: variables indépendantes: sexe et mois; variable dépendante: gr de lipides totaux hépatiques par gr de poids corporel

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	4	0,002	30	0,005	0,485	0,746
Sexe	1	0,001	30	0,005	0,203	0,656
Mois et sexe	4	0,003	30	0,005	0,625	0,649

Il n'y a pas d'effets du sexe, des périodes et de l'interaction sexe/période.

C) GONADES :**1) Pourcentage de lipides totaux dans les gonades:**

Mâles		Femelles		Femelles	
Octobre	3,465	Octobre	6,617	Mars	4,152
Octobre	2,607	Octobre	4,911	Mars	4,667
Octobre	2,882	Octobre	7,059	Mars	5,155
Février	2,427	Octobre	4,891	Mars	6,078
Février	1,724	Octobre	6,330	Mars	4,819
Mars	1,674	Février	5,098	Avril	1,194
Mars	4,826	Février	5,184	Avril	1,585
Mars	4,702	Février	5,065	Avril	2,956
Avril	2,392	Février	5,514	Avril	2,964
Avril	2,410	Février	5,774		
Avril	2,226	Février	6,494		

	Mâles	Femelles
Moyenne	2,849	4,825
ddl	11	20
Ecart-type	1,067	1,584
Variance	1,140	2,510
SCE	11,395	47,697

Test d'égalité des variances		
Ho = les variances sont homogènes		
Fobs	2,203	
k1	19	
k2	10	
alpha	0,05	
Fk1;k2;1-alpha/2	3,42	(table F de Snedecor)
Puisque F obs < F table, => Pr (Ho soit vraie) > 5% AHo		

Test de comparaison de moyennes à variance égales : t-test		
Ho : mâles = femelles		
tobs	3,689	
ddl	29	
alpha	0,05	
t ddl;1-alpha/2	2,045	(table t de Student)
Puisque t obs > table, => Pr (Ho soit vraie) > 5% RHo		
Il y a une différence significative entre les mâles et les femelles		

Analyse de la variance à deux critères de classification:

Tous les effets: variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante : lipides totaux dans les gonades

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	3	7,308	23	0,745	9,804	0,00023
Sexe	1	24,249	23	0,745	32,532	0,00001
Mois et sexe	3	4,626	23	0,745	6,206	0,00302

Test de Scheffé; variable indépendante: mois; variable dépendante : lipides totaux dans les gonades

	{1}	{2}	{3}	{4}
	4,4732	3,7986	4,3539	2,2586
Octobre {1}		0,4992	0,9944	0,0007
Février {2}	0,4992		0,6521	0,0206
Mars {3}	0,9944	0,6521		0,0013
Avril {4}	0,0007	0,0206	0,0013	

Nous mettons en évidence une différence significative entre: le mois d'avril et les mois de février, de mars et octobre.

Annexes

Test de Scheffé; variable indépendante: sexe, variable dépendante: lipide totaux dans les gonades

	{1}	{2}
Mâles {1}	2,784	4,658
Femelles {2}	0,000069	0,000069

Test de Scheffé test; variable indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: lipides totaux dans les gonades

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
Octobre mâles {1}	2,98477	5,96165	2,07567	5,52155	3,73386	4,97414	2,34258	2,17471
Octobre femelles {2}	0,01655	0,01655	0,98466	0,04817	0,99050	0,24432	0,99627	0,97806
Février mâles {3}	0,98466	0,00445	0,00445	0,99773	0,13925	0,84808	0,00213	0,00041
Février femelles {4}	0,04817	0,99773	0,01193	0,01193	0,72445	0,06221	0,99999	1,00000
Mars mâles {5}	0,99050	0,13925	0,72445	0,32944		0,78567	0,78289	0,59646
Mars femelles {6}	0,24432	0,84808	0,06221	0,99130	0,78567		0,04658	0,01329
Avril mâles {7}	0,99627	0,00213	0,99999	0,00631	0,78289	0,04658		1,00000
Avril femelles {8}	0,97806	0,00041	1,00000	0,00124	0,59646	0,01329	1,00000	

2) Gramme de lipides totaux dans les gonades par gramme de poids corporel :

Mâles		Femelles		Femelles	
Octobre	0,212	Octobre	0,502	Mars	0,866
Octobre	0,143	Octobre	0,368	Mars	0,970
Octobre	0,180	Octobre	0,250	Mars	1,049
Février	0,141	Octobre	0,386	Mars	1,164
Février	0,137	Octobre	0,548	Mars	1,076
Mars	0,097	Février	0,847	Avril	0,245
Mars	0,210	Février	0,559	Avril	1,352
Mars	0,219	Février	0,776	Avril	0,887
Avril	0,029	Février	0,835	Avril	0,045
Avril	0,139	Février	0,997		
Avril	0,103	Février	1,130		

Tous les effets: variable indépendante: sexe et mois; variable dépendante: gr de lipides totaux dans les gonades par gr de poids corporel

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	0,138	23	0,060	2,279	0,106
Sexe	1	2,368	23	0,060	39,149	0,000022
Mois et sexe	3	0,132	23	0,060	2,175	0,118

Nous mettons en évidence une différence hautement significative entre mâles et femelles.

Annexe 12:

Résultats du test d'homogénéité des variances et de l'analyse de la variance à deux critères de classification (ANOVA 2) effectués sur les acides gras dans les muscles, foies et gonades:

Remarque préliminaire: Tous les tests d'homogénéité des variances (Bartlett) ont été effectués. Nous ne présentons dans cette annexe que les tests ayant conclu à un rejet d'hypothèse nulle, à savoir l'inégalité des variances.

A) MUSCLES:

1) Acides gras saturés :

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	0,131	0,392	-6,108
	5	19,514	78,058	11,885
	4	2,152	6,455	2,299
	5	1,333	5,332	1,149
Totaux	18		90,24	9,22

Variance résiduelle = $90,24/14 = 6,445$

ln variance résiduelle = 1,863

Chi²obs = 24,316

Chi² tables 0,95 = 7,81

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: acides gras saturés

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	3	6,099	10	8,157	0,748	0,548
Sexe	1	0,017	10	8,157	0,002	0,964
Mois et sexe	3	2,869	10	8,157	0,352	0,789

Nous ne mettons pas en évidence d'effets du mois et du sexe.

2) Acides gras monoinsaturés :

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	1,435	4,306	1,084
	5	165,659	662,634	20,440
	4	6,965	20,895	5,823
	5	9,273	37,093	8,909
Totaux	18		724,928	36,255

Variance résiduelle = $724,93/14 = 51,781$

ln variance résiduelle = 3,947

Chi²obs = 34,791

Chi² tables 0,95 = 7,810

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: acides gras monoinsaturés

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	3	37,173	10	24,869	1,495	0,275
Sexe	1	59,670	10	24,869	2,399	0,152
Mois et sexe	3	123,013	10	24,869	4,946	0,023

Il y a un effet de l'interaction : mois/sexe.

Annexes

Test LSD: variable dépendante: AG monoinsaturés; variables indépendantes: mois et sexe

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
	16,885	17,998	11,481	31,144	20,988	17,318	15,156	14,131
Août mâles {1}		0,851	0,397	0,033	0,574	0,942	0,770	0,662
Août femelles {2}	0,851		0,183	0,009	0,615	0,871	0,501	0,415
Février mâles {3}	0,397	0,183		0,002	0,151	0,229	0,438	0,607
Février femelles {4}	0,033	0,009	0,002		0,108	0,007	0,003	0,004
Mars mâles {5}	0,574	0,615	0,151	0,108		0,538	0,335	0,288
Mars femelles {6}	0,942	0,871	0,229	0,007	0,538		0,607	0,500
Avril mâles {7}	0,770	0,501	0,438	0,003	0,335	0,607		0,826
Avril femelles {8}	0,662	0,415	0,607	0,004	0,288	0,500	0,826	

3) PUFA (n-6):

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	3,465	10,395	3,728
	5	8,944	35,778	8,764
	4	0,715	2,145	-1,007
	5	1,023	4,090	0,089
Totaux	18		52,407	11,575

Variance résiduelle = 52,407/14 = 3,743

ln variance résiduelle = 1,320

Chi²obs = 12,185

Chi² tables 0,95 = 7,810

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante PUFA (n-6):

	df	MS	df	MS	F	p-level
Effect	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	3	0,392	10	1,491	0,263	0,851
Sexe	1	0,555	10	1,491	0,372	0,556
Mois et sexe	3	11,728	10	1,491	7,866	0,005

Il y a un effet de l'interaction : mois/sexe.

Test LSD: variable dépendante: PUFA (n-6); variables indépendantes: mois et sexe

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
	11,848	8,666	7,175	12,075	9,102	9,743	10,195	9,387
Août mâles {1}		0,048	0,011	0,875	0,143	0,166	0,268	0,131
Août femelles {2}	0,048		0,211	0,007	0,763	0,306	0,156	0,532
Février mâles {3}	0,011	0,211		0,001	0,227	0,044	0,022	0,100
Février femelles {4}	0,875	0,007	0,001		0,061	0,041	0,089	0,037
Mars mâles {5}	0,143	0,763	0,227	0,061		0,659	0,456	0,853
Mars femelles {6}	0,166	0,306	0,044	0,041	0,659		0,659	0,756
Avril mâles {7}	0,268	0,156	0,022	0,089	0,456	0,659		0,485
Avril femelles {8}	0,131	0,532	0,100	0,037	0,853	0,756	0,485	

4) PUFA (n-3):**Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)**

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	11,022	33,067	7,200
	5	126,324	505,294	19,355
	4	13,692	41,075	7,850
	5	9,292	37,167	8,917
Totaux	18		616,603	43,322

Variance résiduelle $616,603/14 = 44,043$

ln variance résiduelle = 3,785

Chi²obs = 24,811Chi² tables 0,95 = 7,810**Rho**

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante PUFA (n-3):

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	3	67,334	10	41,962	1,605	0,250
Sexe	1	54,010	10	41,962	1,287	0,283
Mois et sexe	3	38,407	10	41,962	0,915	0,468

Nous ne mettons pas en évidence d'effets du mois et du sexe.

5) C18:2 (n-6):**Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)**

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	0,234	0,702	-4,356
	5	4,921	19,686	6,374
	4	0,233	0,698	-4,375
	5	0,321	1,285	-4,541
Totaux	18		22,371	-6,897

Variance résiduelle $22,371/14 = 1,598$

ln variance résiduelle = 0,469

Chi²obs = 15,334Chi² tables 0,95 = 7,81**Rho**

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante C18:2 (n-6):

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	3	0,805	10	0,483	1,669	0,236
Sexe	1	1,243	10	0,483	2,576	0,140
Mois et sexe	3	4,910	10	0,483	10,174	0,002

Il y a un effet de l'interaction : mois/sexe.

Annexes

Test de Scheffé: variable dépendante: C18:2 (n-6); variables indépendantes: mois et sexe

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
Août mâles {1}	3,396	2,582	1,418	5,167	2,690	2,329	2,496	2,243
Août femelles {2}	0,991	0,991	0,623	0,676	0,999	0,959	0,984	0,955
Février mâles {3}	0,623	0,828	0,828	0,058	1,000	1,000	1,000	1,000
Février femelles {4}	0,676	0,058	0,011		0,317	0,034	0,048	0,055
Mars mâles {5}	0,999	1,000	0,928	0,317		1,000	1,000	1,000
Mars femelles {6}	0,959	1,000	0,941	0,034	1,000		1,000	1,000
Avril mâles {7}	0,984	1,000	0,873	0,048	1,000	1,000		1,000
Avril femelles {8}	0,955	1,000	0,978	0,055	1,000	1,000	1,000	

6) C18:3 (n-3):

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante C18:3 (n-3):

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	0,088	10	0,132	0,665	0,592
Sexe	1	0,163	10	0,132	1,235	0,292
Mois et sexe	3	0,143	10	0,132	1,083	0,400

Nous ne mettons pas en évidence d'effets du mois et du sexe.

7) AA:

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante AA:

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	0,765	10	0,675	1,133	0,382
Sexe	1	0,229	10	0,675	0,339	0,574
Mois et sexe	3	2,233	10	0,675	3,306	0,066

Nous ne mettons pas en évidence d'effets du mois et du sexe.

8) EPA:

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	6,139	18,416	5,444
	5	7,092	28,368	7,836
	4	1,072	3,216	0,208
	5	1,456	5,822	1,502
Totaux	18		55,823	14,990

Variance résiduelle $55,832/14 = 3,987$

ln variance résiduelle = 1,383

Chi²obs = 9,906

Chi² tables 0,95 = 7,810

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante EPA:

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	1,030	10	2,435	0,423	0,741
Sexe	1	12,288	10	2,435	5,047	0,048
Mois et sexe	3	6,051	10	2,435	2,485	0,120

Il y a une différence significative entre les sexes

9) DHA:**Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)**

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	13,994	41,983	7,916
	5	159,238	636,950	20,282
	4	5,337	16,010	5,024
	5	6,294	25,176	7,358
Totaux	18		720,118	40,580

Variance résiduelle 720,118/14 = 51,437

ln variance résiduelle = 3,940

Chi²obs = 30,347Chi² tables 0,95 = 7,810**Rho**

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante DHA:

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	3	47,769	10	45,551	1,049	0,413
Sexe	1	104,667	10	45,551	2,298	0,161
Mois et sexe	3	40,292	10	45,551	0,885	0,482

Nous ne mettons pas en évidence d'effets du mois et du sexe.

10) C24:**Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)**

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	18,240	54,720	8,711
	5	35,808	143,232	14,313
	4	58,640	175,920	12,214
	5	29,106	116,423	13,484
Totaux	18		490,295	48,722

Variance résiduelle 490,295/14 = 35,021

ln variance résiduelle = 3,556

Chi²obs = 15,286Chi² tables 0,95 = 7,810**Rho**

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante : C24

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	3	34,478	10	34,686	0,994	0,435
Sexe	1	9,858	10	34,686	0,284	0,606
Mois et sexe	3	47,441	10	34,686	1,368	0,308

Nous ne mettons pas en évidence d'effets du mois et du sexe.

B) FOIES:**1) Acides gras saturés :**

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: acides gras saturés

	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-level
Mois	4	15,108	16	9,751	1,549	0,236
Sexe	1	17,412	16	9,751	1,786	0,200
Mois et sexe	4	7,444	16	9,751	0,763	0,564

Nous ne mettons pas en évidence d'effets du mois et du sexe.

2) Acides gras monoinsaturés :*Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)*

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	123,940	371,821	14,459
	6	3,684	18,422	6,521
	5	39,217	156,869	14,676
	5	1,990	7,961	2,753
	6	3,002	15,010	5,496
Totaux	26		570,082	423,905

Variance résiduelle 570,082/21 = 27,147

ln variance résiduelle = 3,301

Chi²obs = 25,421Chi² tables 0,95 = 9,490

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: acides gras monoinsaturés

	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-level
Mois	4	117,654	16	26,062	4,514	0,012
Sexe	1	5,275	16	26,062	0,202	0,659
Mois et sexe	4	35,813	16	26,062	1,374	0,287

Nous mettons en évidence un effet de la période.

Test de Scheffé: variable dépendante: AG monoinsaturés; variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
Août {1}	27,68967	13,961	16,024	19,285	14,311
octobre {2}	0,014		0,977	0,577	1,000
Février {3}	0,056	0,977		0,902	0,988
Mars {4}	0,247	0,577	0,902		0,637
Avril {5}	0,018	1,000	0,988	0,637	

Il y a une différence significative entre les mois d'octobre et août, avril et août.

3) PUFA (n-6) :

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: PUFA (n-6)

	df Effect	MS Effect	df Error	MS Error	F	p-level
Mois	4	26,796	16	2,248	11,922	0,0001
Sexe	1	3,381	16	2,248	1,504	0,238
Mois et sexe	4	4,703	16	2,248	2,092	0,129

Nous mettons en évidence un effet de la période.

Annexes

Test de Scheffé: variable dépendante: PUFA (n-6); variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
	5,5527	11,7023	12,5377	11,4013	11,7282
Août {1}		0,0003	0,0001	0,0007	0,0003
octobre {2}	0,0003		0,9281	0,9984	1,0000
Février {3}	0,0001	0,9281		0,8340	0,9354
Mars {4}	0,0007	0,9984	0,8340		0,9978
Avril {5}	0,0003	1,0000	0,9354	0,9978	

Il y a une différence significative entre août et les autres mois.

4) PUFA (n-3) :

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	49,587	148,760	11,711
	6	0,697	3,485	-1,805
	5	40,640	162,562	14,819
	5	5,019	20,078	6,453
	6	2,421	12,106	4,421
Totaux	26		346,990	35,599

Variance résiduelle $346,990/21 = 16,523$

ln variance résiduelle = 2,804

Chi²obs = 23,300

Chi² tables 0,95 = 9,490

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: PUFA (n-3)

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	4	55,396	16	15,305	3,620	0,028
Sexe	1	15,135	16	15,305	0,989	0,335
Mois et sexe	4	21,713	16	15,305	1,419	0,273

Nous mettons en évidence un effet de la période.

Test de Scheffé: variable dépendante: PUFA (n-3); variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
	34,704	42,630	42,903	39,424	44,246
Août {1}		0,087	0,089	0,538	0,029
octobre {2}	0,087		1,000	0,765	0,970
Février {3}	0,089	1,000		0,740	0,987
Mars {4}	0,538	0,765	0,740		0,419
Avril {5}	0,029	0,970	0,987	0,419	

Il y a une différence significative entre le mois d'août et le mois d'avril

5) C18:2 (n-6):

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: C18:2 (n-6)

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	4	2,701	16	1,292	2,091	0,130
Sexe	1	0,484	16	1,292	0,375	0,549
Mois et sexe	4	4,286	16	1,292	3,318	0,037

Il y a un effet de l'interaction : mois/sexe.

Annexes

Test LSD: variable dépendante: C18:2 (n-6); variables indépendantes: mois et sexe

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}	{9}	{10}
Août mâles {1}	3,303	4,268	2,929	0,921	0,847	3,205	3,054	1,275	2,006	1,022
Août femelles {2}	0,473	0,473	0,779	0,088	0,097	0,942	0,852	0,165	0,338	0,101
octobre mâles {3}	0,779	0,168	0,168	0,002	0,005	0,269	0,209	0,011	0,027	0,003
octobre femelles {4}	0,088	0,002	0,046		0,944	0,026	0,035	0,737	0,259	0,915
Février mâles {5}	0,097	0,005	0,062	0,944		0,037	0,049	0,711	0,280	0,868
Février femelles {6}	0,942	0,269	0,769	0,026	0,037		0,873	0,081	0,215	0,032
Mars mâles {7}	0,852	0,209	0,894	0,035	0,049	0,873		0,106	0,275	0,044
Mars femelles {8}	0,165	0,011	0,131	0,737	0,711	0,081	0,106		0,491	0,810
Avril mâles {9}	0,338	0,027	0,335	0,259	0,280	0,215	0,275	0,491		0,304
Avril femelles {10}	0,101	0,003	0,057	0,915	0,868	0,032	0,044	0,810	0,304	

6) AA:

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	11,269	33,808	7,266
	6	0,851	4,257	-0,804
	5	3,552	14,206	5,070
	5	3,972	15,887	5,517
	6	0,812	4,061	-1,040
Totaux	26		72,220	16,009

Variance résiduelle 72,220/21 = 3,439

ln variance résiduelle = 1,235

Chi²obs = 9,930

Chi² tables 0,95 = 9,490

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: AA

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	4	43,312	16	3,147	13,763	0,00005
Sexe	1	8,003	16	3,147	2,543	0,130
Mois et sexe	4	3,972	16	3,147	1,262	0,325

Nous mettons en évidence un effet de la période.

Test de Scheffé: variable dépendante: AA; variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
Août {1}	1,7672	9,5083	10,4044	9,0377	10,04100
octobre {2}	0,0001	0,0001	0,0001	0,0004	0,0001
Février {3}	0,0001	0,9485	0,9485	0,9952	0,9908
Mars {4}	0,0004	0,9952	0,8258	0,8258	0,9982
Avril {5}	0,0001	0,9908	0,9982	0,9244	

Il y a une différence significative entre août et les autres mois.

7) EPA:

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	0,618	1,855	-1,442
	6	0,993	4,965	-0,036
	5	9,079	36,316	8,824
	5	0,942	3,767	-0,240
	6	0,138	0,691	-9,896
Totaux	26		47,594	-2,790

Variance résiduelle $47,594/21 = 2,266$

ln variance résiduelle = 0,818

Chi²obs = 19,971

Chi² tables 0,95 = 9,490

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: EPA

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	4	0,661	16	2,050	0,322	0,859
Sexe	1	1,734	16	2,050	0,846	0,371
Mois et sexe	4	3,368	16	2,050	1,643	0,212

Nous ne mettons pas en évidence un effet du mois et du sexe.

8) DHA:

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	70,203	210,609	12,754
	6	6,301	31,506	9,204
	5	91,851	367,404	18,081
	5	4,400	17,601	5,927
	6	2,384	11,919	4,343
Totaux	26		639,040	50,309

Variance résiduelle $639,040/21 = 30,430$

ln variance résiduelle = 3,415

Chi²obs = 21,416

Chi² tables 0,95 = 9,490

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: DHA

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	4	94,461	16	22,999	4,107	0,018
Sexe	1	69,927	16	22,999	3,040	0,100
Mois et sexe	4	55,223	16	22,999	2,401	0,093

Nous mettons en évidence un effet de la période.

Test de Scheffé: variable dépendante: DHA; variable indépendante: mois

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
Août {1}	25,041	35,044	36,886	31,523	37,192
octobre {2}		0,075	0,034	0,429	0,022
Février {3}	0,075		0,981	0,828	0,960
Mars {4}	0,034	0,981		0,553	1,000
Avril {5}	0,429	0,828	0,553		0,460
	0,022	0,960	1,000	0,460	

Il y a une différence significative entre février et août, avril et août.

C) GONADES:**1) Acides gras saturés :**

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: acides gras saturés :

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	9,509	10	3,002	3,168	0,072
Sexe	1	325,496	10	3,002	108,438	0,000001
Mois et sexe	3	1,355	10	3,002	0,452	0,722

Nous mettons en évidence une différence significative entre les sexes.

2) Acides gras monoinsaturés :

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: acides gras monoinsaturés :

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	5,257	10	9,185	0,572	0,646
Sexe	1	46,390	10	9,185	5,050	0,048
Mois et sexe	3	29,690	10	9,185	3,232	0,069

Nous mettons en évidence une différence significative entre les sexes.

3) PUFA (n-6):

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: PUFA (n-6)

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	3,067	10	4,655	0,659	0,596
Sexe	1	26,713	10	4,655	5,739	0,038
Mois et sexe	3	4,102	10	4,655	0,881	0,483

Nous mettons en évidence une différence significative entre les sexes.

PUFA (n-3):

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: PUFA (n-3)

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	16,883	10	6,782	2,489	0,120
Sexe	1	314,297	10	6,782	46,345	0,00005
Mois et sexe	3	8,069	10	6,782	1,190	0,363

Nous mettons en évidence une différence significative entre les sexes.

4) C18:2 (n-6):

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: C18:2 (n-6)

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	1,144	10	5,051	0,226	0,876
Sexe	1	6,006	10	5,051	1,189	0,301
Mois et sexe	3	5,295	10	5,051	1,048	0,413

Nous ne mettons pas en évidence d'effets du mois et du sexe.

Annexes

5) C18:3 (n-3):

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: C18:3 (n-3)

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	0,004	10	0,056	0,068	0,976
Sexe	1	2,414	10	0,056	42,802	0,0001
Mois et sexe	3	0,029	10	0,056	0,514	0,682

Nous mettons en évidence une différence significative entre les sexes.

6) AA:

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: AA

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	1,256	10	0,476	2,642	0,107
Sexe	1	60,063	10	0,476	126,296	0,000001
Mois et sexe	3	1,673	10	0,476	3,517	0,057

Nous mettons en évidence une différence significative entre les sexes.

7) EPA:

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	0,054	0,161	-8,766
	4	0,403	1,209	-2,728
	6	3,233	16,166	5,867
	5	1,777	7,109	2,300
Totaux	19		24,645	-3,326

Variance résiduelle = 24,645/15 = 1,643

ln variance résiduelle = 0,497

Chi²obs = 10,773

Chi² tables 0,95 = 7,810

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: EPA

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	2,338	10	0,371	6,306	0,011
Sexe	1	7,068	10	0,371	19,061	0,001
Mois et sexe	3	2,384	10	0,371	6,431	0,011

Nous mettons en évidence un effet du mois, du sexe et de l'interaction mois/sexe.

Test de Scheffé; variable indépendante: mois; variable dépendante : EPA

	{1}	{2}	{3}	{4}
Octobre {1}	6,510	6,069	7,752	7,125
Février {2}	0,790	0,790	0,012	0,584
Mars {3}	0,065	0,012		0,499
Avril {4}	0,584	0,177	0,499	

Il y a une différence significative entre mars et février.

Annexes

Test de Scheffé: variable dépendante: EPA; variables indépendantes: mois et sexe

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
Août mâles {1}	6,654	6,367	6,106	6,031	9,332	6,172	8,023	6,227
Août femelles {2}	1,000	1,000	0,999	0,984	0,043	0,996	0,658	0,999
Février mâles {3}	0,999	1,000	1,000	1,000	0,056	1,000	0,515	1,000
Février femelles {4}	0,984	1,000	1,000		0,005	1,000	0,185	1,000
Mars mâles {5}	0,043	0,023	0,056	0,005		0,007	0,611	0,017
Mars femelles {6}	0,996	1,000	1,000	1,000	0,007		0,246	1,000
Avril mâles {7}	0,658	0,453	0,515	0,185	0,611	0,246		0,365
Avril femelles {8}	0,999	1,000	1,000	1,000	0,017	1,000	0,365	

8) DHA:

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: DHA

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	14,993	10	6,456	2,322	0,137
Sexe	1	416,078	10	6,456	64,445	0,00001
Mois et sexe	3	15,161	10	6,456	2,348	0,134

Nous mettons en évidence une différence significative entre les sexes.

9) C24:

Test d'homogénéité des variances (effectifs inégaux = Test de Bartlett)

	ni	Si ²	(ni - 1) Si ²	(ni - 1) ln Si ²
	4	89,202	267,607	13,473
	4	9,867	29,602	6,868
	5	3,067	12,269	4,483
Totaux	13		309,478	24,824

Variance résiduelle 309,478/10 = 30,948

ln variance résiduelle = 3,432

Chi²obs = 9,499

Chi² tables 0,95 = 5,990

Rho

Nous ne pouvons pas conclure à l'égalité des variances

Tous les effets; variables indépendantes: mois et sexe; variable dépendante: C24

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	3	57,551	10	2,141	26,877	0,00004
Sexe	1	129,895	10	2,141	60,662	0,00001
Mois et sexe	3	57,551	10	2,141	26,877	0,00004

Nous mettons en évidence un effet du mois, du sexe et de l'interaction mois/sexe.

Test de Scheffé; variable indépendante: mois; variable dépendante: C24

	{1}	{2}	{3}	{4}
Octobre {1}	7,9968	2,7762	0,0000	0,6243
Février {2}	0,0042		0,0893	0,2884
Mars {3}	0,0001	0,0893		0,9302
Avril {4}	0,0003	0,2884	0,9302	

Il y a une différence significative entre octobre et les autres mois.

Annexes

Test de Scheffé: variable dépendante: C24; variables indépendantes: mois et sexe

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}	{6}	{7}	{8}
	0,000000	15,99350	0,000000	5,552333	0,000000	0,000000	0,000000	1,248500
Août mâles {1}		0,00008	1,00000	0,09467	1,00000	1,00000	1,00000	0,99670
Août femelles {2}	0,00008		0,00048	0,00142	0,00004	0,00004	0,00008	0,00017
Février mâles {3}	1,00000	0,00048		0,25762	1,00000	1,00000	1,00000	0,99907
Février femelles {4}	0,09467	0,00142	0,25762		0,05234	0,05234	0,09467	0,27591
Mars mâles {5}	1,00000	0,00004	1,00000	0,05234		1,00000	1,00000	0,99428
Mars femelles {6}	1,00000	0,00004	1,00000	0,05234	1,00000		1,00000	0,99428
Avril mâles {7}	1,00000	0,00008	1,00000	0,09467	1,00000	1,00000		0,99670
Avril f emelles{8}	0,99670	0,00017	0,99907	0,27591	0,99428	0,99428	0,99670	

Annexe 13:

Résultats du test d'homogénéité des variances et de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectués sur différentes structures hépatiques:

A) INCLUSIONS LIPIDIQUES :

1) Surface des gouttelettes lipidiques (μm^2) :

Le tableau reprend la surface moyenne des gouttelettes lipidiques pour les 3 femelles analysées par période.

	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
	2,311	0,441	0,417	0,319	0,388
	0,263	0,368	0,519	0,341	0,782
	0,756	0,528	0,910	0,458	0,469
ni	3	3	3	3	3
Moyenne	1,110	0,445	0,615	0,373	0,546
Variance	1143083,997	6406,314	67807,135	5570,099	43143,130
Ecart-type	1,069	0,080	0,260	0,075	0,208

Test d'homogénéité des variances (effectifs égaux = Test de Hartley)

Ho = les variances sont homogènes.

Hobs	205,218	
Htabl	202	Comme Hobs > Htabl: Rho

Ce test ne permet pas de conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variable indépendante: mois; variable dépendante: surface des gouttelettes lipidiques

	df	MS	df	MS	F	p-level
	Effect	Effect	Error	Error		
Mois	4	2,527E+11	1,000E+01	2,532E+11	9,980E-01	4,525E-01

La probabilité étant supérieure à 0,05 il n'y a pas d'effet des mois sur la surface des gouttelettes lipidiques.

2) Nombre de gouttelettes lipidiques :

Le tableau reprend le nombre moyen des gouttelettes lipidiques pour les 3 femelles analysées par période.

	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
	12	9,82	11,20	12,60	12,81
	20	10,80	10,35	8,00	12,17
	13	8,83	14,50	11,37	10,61
ni	3	3	3	3	3
Moyenne	14,85	9,82	12,02	10,66	11,86
Variance	19,82	0,97	4,81	5,67	1,28
Ecart-type	4,45	0,98	2,19	2,38	1,13

Test d'homogénéité des variances (effectifs égaux = Test de Hartley)

Ho = les variances sont homogènes.

Hobs	20,50	
Htabl	202,00	Comme Hobs < Htabl: Aho

Ce test permet de conclure à l'égalité des variances.

Annexes

Tous les effets; variable indépendante: mois; variable dépendante: nombre de gouttelettes lipidiques

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	4	11,630	10	6,346	1,833	0,199

La probabilité étant supérieure à 0,05 il n'y a pas d'effet des mois sur le nombre de gouttelettes lipidiques.

B) INCLUSIONS DE GLYCOGENES:

Le tableau reprend la surface moyenne du glycogène (μm^2) pour les 3 femelles analysées par période.

	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
	27,45	23,16	58,43	3,06	18,56
	13,66	12,37	25,88	17,15	14,98
	107,93	107,34	38,83	31,38	42,73
ni	3	3	3	3	3
Moyenne	49,68	47,62	41,05	17,20	25,42
Variance	2592,25	2703,33	268,53	200,52	227,78
Ecart-type	50,91	51,99	16,39	14,16	15,09

Test d'homogénéité des variances (effectifs égaux = Test de Hartley)

Ho = les variances sont homogènes.

Hobs	13,482	
Htabl	202	Comme Hobs < Htabl: Aho

Ce test permet de conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variable indépendante: mois; variable dépendante: surface de glycogène

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	4	609,698	10	1198,480	0,509	0,731

La probabilité étant supérieure à 0,05 il n'y a pas d'effet des mois sur la surface de glycogène.

C) MITOCHONDRIES:

1) Surface des mitochondries (μm^2):

Le tableau reprend la surface moyenne des mitochondries pour les 3 femelles analysées par période.

	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
	0,283	0,592	0,856	0,505	0,931
	0,361	0,573	0,647	0,461	0,992
	0,283	0,473	0,539	0,378	0,578
ni	3	3	3	3	3
Moyenne	0,309	0,546	0,681	0,448	0,833
Variance	0,002	0,004	0,026	0,004	0,050
Ecart-type	0,045	0,064	0,161	0,065	0,223

Test d'homogénéité des variances (effectifs égaux = Test de Hartley)

Ho = les variances sont homogènes.

Hobs	24,604	
Htabl	202	Comme Hobs < Htabl: Aho

Annexes

Ce test permet de conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variable indépendante: mois; variable dépendante: surface des mitochondries

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	4	1,237E+11	10	1,723E+10	7,177	0,005

La probabilité étant inférieure à 0,05 il y a un effet des mois sur la surface des mitochondries.

Test de Scheffé: variable indépendante: mois; variable dépendante: surface des mitochondries

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
	309106,1	545589,6	680520,3	448087,6	833417,7
Août {1}		0,363	0,072	0,791	0,010
Octobre {2}	0,363		0,807	0,929	0,205
Février {3}	0,072	0,807		0,378	0,731
Mars {4}	0,791	0,929	0,378		0,060
Avril {5}	0,010	0,205	0,731	0,060	

Nous mettons en évidence une différence significative entre les mois d'août et avril.

2) Nombre de mitochondries :

Le tableau reprend le nombre moyen de mitochondries pour les 3 femelles analysées par période.

	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
	15,89	9,67	13,00	13,84	11,87
	19,75	13,05	11,50	18,50	16,85
	19,00	7,54	14,39	15,40	16,19
ni	3	3	3	3	3
Moyenne	18,21	10,09	12,96	15,91	14,97
Variance	4,19	7,73	2,09	5,62	7,32
Ecart-type	2,05	2,78	1,44	2,37	2,71

Test d'homogénéité des variances (effectifs égaux = Test de Hartley)

Ho = les variances sont homogènes.

Hobs	3,705	
Htabl	202	Comme Hobs < Htabl: Aho

Ce test permet de conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variable indépendante: mois; variable dépendante: nombre de mitochondries

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	4,0	28,369	10	5,392	5,262	0,015

La probabilité étant inférieure à 0,05 il y a un effet des mois sur le nombre de mitochondries.

Test de Scheffé: variable indépendante: mois; variable dépendante: nombre de mitochondries

	{1}	{2}	{3}	{4}	{5}
	18,213	10,086	12,963	15,914	14,968
Août {1}		0,023	0,184	0,826	0,590
Octobre {2}	0,023		0,687	0,123	0,235
Février {3}	0,184	0,687		0,668	0,885
Mars {4}	0,826	0,123	0,668		0,992
Avril {5}	0,590	0,235	0,885	0,992	

Nous mettons en évidence une différence significative entre les mois d'août et d'octobre.

D) RÉTICULUM ENDOPLASMIQUE RUGUEUX (RER) :

Le tableau reprend la surface moyenne du RER (μm^2) pour les 3 femelles analysées par période.

	Août	Octobre	Février	Mars	Avril
	33,333	49,091	35,600	55,000	47,385
	17,333	43,818	44,400	41,364	40,769
	20,091	29,727	52,300	38,500	33,750
ni	3	3	3	3	3
Moyenne	23,586	40,879	44,100	44,955	40,635
Variance	8,553	10,011	8,354	8,817	6,818
Ecart-type	73,161	100,218	69,790	77,733	46,489

Test d'homogénéité des variances (effectifs égaux = Test de Hartley)

Ho = les variances sont homogènes.

Hobs	2,156	
Htabl	202	Comme Hobs < Htabl: Aho

Ce test permet de conclure à l'égalité des variances.

Tous les effets; variable indépendante: mois; variable dépendante: surface du RER

	df	MS	df	MS		
	Effect	Effect	Error	Error	F	p-level
Mois	5	185,665	9	80,203	2,315	0,129

La probabilité étant supérieure à 0,05 il n'y a pas d'effet des mois sur la surface du RER.