Institutional Repository - Research Portal
Dépôt Institutionnel - Portail de la Recherche
researchportal.unamur.be
University of Namur

THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Recherche de la période de sevrage sur aliments artificiels de la perche (Perca fluviatilis) et étude des activités enzymatiques pendant son ontogenèse

Parfait, Olivier

Award date:
1994

Awarding institution:
Universite de Namur

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.

Download date: 02. May. 2026

FACULTES UNIVERSITAIRES N.-D. DE LA PAIX
NAMUR
FACULTE DES SCIENCES

RECHERCHE DE LA PÉRIODE DE SEVRAGE SUR ALIMENTS ARTIFICIELS DE LA PERCHE (*PERCA FLUVIATILIS*) ET ÉTUDE DES ACTIVITÉS ENZYMATIQUES PENDANT SON ONTOGENÈSE

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

PARFAIT OLIVIER

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
FACULTE DES SCIENCES
Rue de Bruxelles 61 - 5000 NAMUR
Tél. 081/72.41.11 - Telex 59222 Facnam-b - Telefax 081/72.44.20

Recherche de la période de sevrage sur aliments artificiels de la perche (*Perca fluviatilis*) et étude des activités enzymatiques pendant son ontogenèse

PARFAIT Olivier

Résumé

Ce travail comportait trois buts: déterminer le moment adéquat au sevrage sur l'aliment artificiel sec chez les larves de perches (*Perca fluviatilis*), examiner l'effet d'aliments artificiels sur les activités protéolytiques (trypsique, chymotrypsique et pepsisque) et préciser la meilleure durée totale pour le sevrage. Les critères zootechniques d'évaluation chez les larves étaient la survie, les croissances en poids et la longueur, la biomasse, le taux de croissance spécifique, le taux de conversion alimentaire et le cœfficient d'efficacité protéique.

Dans une première expérience, des larves de perche distribuées dans 12 bassins d'élevage de 25 litres (250 larves chacun), à une température (20,5°C) et à une photopériode (L : D 16 /8) constantes, sont sevrées en 4 jours, à des poids moyens différents (7,13,18,56 et 112 mg). Dans 2 bassins, des larves sont nourries exclusivement d'*Artemia* et constituent un lot témoin. Cette expérience est accompagnée d'un élevage extensif en étang de 110 m^2 considéré comme standard, ainsi que d'un élevage semi-intensif en bassins-bâches de 10 m^2 en vue de situer les résultats de notre expérience par rapport à des élevges en conditions plus ou moins naturelles. Dans une deuxième expérience, des enzymes protéolytiques sont suivis particulièrement lors de l'ontogenèse de larves nourries, soit d'*Artemia* (= témoin), soit d'un aliment artificiel (LANSY ou Seabream).. Lors d'une troisième expérience, des larves sont sevrées sur du Seabream en 11, 21 ou 24 jours et, comme dans les expériences précédentes, les critères zootechniques et biochimiques des larves sont suivis.

Comme conclusion, nous avons trouvé que le sevrage devait se réaliser vers 350 mg et sur une durée de 4 à 10 jours. Nous avons aussi remarqué qu'un aliment artificiel engendrait une augmentation des activités protéolytiques lorsqu'il constituait une part importante de la ration des larves, face à un aliment vivant.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques
Décembre 1994
Promoteur : J.-C. Micha

Remerciements

Lors de la réalisation de ce mémoire, j'ai eu le plaisir de rencontrer, quelquefois pour la première fois, de nombreuses personnes qui m'ont aidé, parfois même indirectement, que ce soit par leurs exigences, leurs connaissances, leurs services ou leur amitié. Je tiens à leur exprimer ma vive gratitude et à les assurer que les soutiens, si minimes soient-il, physiques ou moraux, qu'ils m'ont apporté ont été les pierres indispensables à la construction de l'édifice que constitue ce travail.

Plus particulièrement, je veux adresser ici tous mes remerciements au Professeur J.-Cl. MICHA, mon promoteur de mémoire, de m'avoir accueilli dans son laboratoire et avoir été attentif au bon suivi de ce mémoire.

Au Docteur P. KESTEMONT, pour sa rigueur scientifique et ses multiples conseils et idées, pour sa disponibilité à discuter à propos de toutes mes pensées incertaines ou incomplètes, pour sa participation active à mes travaux et, enfin, pour la patience dont il a fait preuve maintes fois à mon égard.

Mes remerciements s'adressent également au Professeur R. WATTIAUX, au Docteur C. MELARD et au Docteur C. VINALS pour avoir accepté de juger ce travail.

J'adresse une gratitude particulière au doctorand E. FIOGBE concernant l'imposante aide tant matérielle que psychologique qu'il m'a donnée en sacrifiant son temps précieux.

J'exprime aussi ma reconnaissance à Monsieur L. PIRMEZ pour son aide technique tout au long des recherches effectuées à Haugimont.

Un grand merci à toutes les personnes qui m'ont conseillé ou permis d'utiliser les divers appareillages de leur laboratoire, dans les départements que j'ai sillonné lors de mes recherches. Je pense, ici, entre autres, à Monsieur E. PIROTTE, au Docteur G. TRAUSCH et au Docteur S. LORET.

Je tiens à garantir de mon amitié tous les membres du laboratoire de l'U.N.E.CE.D. et plus précisément le doctorand J. RICNCHARD et Monsieur Y. MINE, pour leur sympathie et leurs conseils.

Je voudrais aussi témoigner de ma très grande reconnaissance les membres de ma famille, proches ou éloignés, pour leur amour toujours aussi fort et incessant.

TABLE DE MATIERE

I. INTRODUCTION GENERALE 1

1. Aperçu de la filière de certains percidés 2
2. Etat actuel de la pisciculture de la perche 4

II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 6

1. Présentation de la perche fluviatile (*Perca fluviatilis*) et état actuel de sa pisciculture 7
   1.1. Position systématique et distribution géographique 7
   1.2. Biologie et exigences écologiques 8
   1.3. Reproduction, embryogenèse et développement larvaire 9
   1.4. Alimentation des larves et des juvéniles en milieu naturel 9
   1.5. Etat actuel de la pisciculture de la perche 11
2. Phénomènes importants liés au développement larvaire 12
   2.1. La coordination des changements morphophysiologiques pendant le développement larvaire 12
   2.2. Vulnérabilité des larves face au jeûne 12
   2.3. Evolution du régime alimentaire des larves et ses conséquences 13
   2.4. Les périodes critiques et le point de non retour 13
3. Développenent anatomique et fonctionnel du tractus digestif des larves de perche 14
   3.1. Comparaison morphologique avec le tube digestif d'autres larves de téléostéens 14
   3.2. Ontogenèse du tractus digestif chez la perche 15
4. Ingestion, digestion et absorption des aliments par les larves de téléostéens 17
   4.1. Facteurs influençant le comportement de la larve face a l'aliment 17
      4.1.1. La taille de l'aliment 17
      4.1.2. La stabilité de l'aliment dans l'eau 18
      4.1.3. La texture et la structure des particules alimentaires 19
      4.1.4. La couleur et l'odeur des aliments 19
   4.2. La digestion et les enzymes protéolytiques 20
      4.2.1. Description des enzymes protéolytiques et de leur localisation 20
         4.2.1.1. La pepsine 20
         4.2.1.2. La trypsine 21
         4.2.1.3. La chymotrypsine 21
         4.2.1.4. Les autres protéases 21
      4.2.2. Facteurs influençant les activités protéolytiques 22

4.2.2.1. L'espèce et le stade de développement du poisson 22
4.2.2.2. Les circonstances spéciales précédant les mesures 27
4.2.2.3. La température et la salinité de l'eau 28
4.2.2.4. La présence d'enzymes exogènes 29
4.2.2.5. La quantité et la qualité des aliments 31
4.3. Absorption des aliments 34
4.3.1. Rappel sur le métabolisme protéique des poissons 34
4.3.2. Absorption des aliments et besoins protéiques 34
4.3.3. Comparaison entre les aliments vivant et artificiel 35
5. Description et production des Artémia 36
6. Précisions à propos des aliments artificiels et de l'élevage intensif 36
6.1. Les avantages et inconvenients de l'élevage intensif 36
6.2. La composition des aliments artificiels 37
6.3. La quantité des aliments et la fréquence de leur distribution 37
6.4. Le moment adéquat du sevrage 38
6.5. Comment évaluer la qualité d'un aliment artificiel? 39
6.6. Utilisation des activités protéolytiques pour tester un aliment 40
6.7. Description brève des techniques de dosage des activités enzymatiques 41

III. Materiel et méthodes 42

1. Moyens expérimentaux 43
1.1. Origine des larves 43
1.2. Elevage larvaire en conditions semi-extensives 44
1.2.1. Description des étangs 44
1.2.2. Fertilisation minérale 44
1.2.3. Suivi des paramètres abiotiques et biotiques suivis 44
1.3. Elevage larvaire en conditions semi-intensives 45
1.4. Elevage larvaire en conditions intensives 46
1.4.1. Dispositif du système expérimental 46
1.4.2. Dispositif de nourrissage pour les Artémia et les aliments artificiels 47
1.4.2.1. Pour les Artemia 47
1.4.2.2. Pour les aliments artificiels 47
1.4.3. Protocole expériementaux 47
1.4.3.1. Rappel du but de ces recherches 47
1.4.3.2.Description précise de chaque expérience 48
1.4.5. Paramètres suivis et entretien du système 49
1.4.5.1. Paramètres suivis 49
1.4.5.2. Entretien du système 49
1.4.6 Contrôle de la population de larves 50

1.4.6.1. Survie et cannibalisme 50
1.4.6.2. Croissance en poids et en longueur et taux de croissance spécifique 50
1.4.6.3. Cœfficient d'efficacité protéique 51
1.5. Analyses biochimiques 52
1.5.1. Préparation des échantillons pour les dosages 52
1.5.2. Dosage de trypsine et de la chymotrypsine 53
1.5.3. Dosage de la pepsine 53
1.5.4. Limites des techniques 54
1.6. Anlayses statistiques 55

I.V. RESUSLTATS 56

4.1. Expérience 1 : recherche du moment adéquat au sevrage 57
4.1.1. Evolution des paramètres physico-chimiques et de facteurs associés 57
4.1.1.1. Lors de l'élevage en conditions extensives 57
4.1.1.2. Lors de l'élevage en conditions semi-intensives 58
4.1.1.3. Lors de l'élevage en conditions intensives 59
4.1.2. Evolution des critères zootechniques 59
4.1.2.1. Survie des larves et cannibalisme 59
4.1.2.2. Performances de croissance des larves 61
4.1.2.3. Evolution des activités enzymatiques 64
4.2. Expérience testant la durée de la phase de transition vers un aliment artificiel 67
4.2.1. Evolution des critères zootechniques 67
4.2.2. Evolution des activités enzymatiques 67
4.3. Expérience testant l'effet de la nature de l'aliment artificiel 69
4.3.1. Evolution des critères zootechniques 69
4.3.2. Evolution des activités enzymatiques 69
4.4. Effet global d'un aliment artificiel 71

V. DISCUSSION DES RESULTATS 73

5.1.Analyse de conditons environnemtales et de critères zootechniques lors de trois types d'élevage 74
5.1.1. Evolution des paramètres physico-chimiques et de facteurs associés 74
5.1.1.1. Lors de l'élevage en conditions extensives 74
5.1.1.2. Lors des élevages en conditions semi-intensives et intensives 75
5.1.2. Evolution des critères zootechniques 75
5.1.2.1. Lors de l'élevage en conditons extensives 75
5.1.2.2. Lors de l'élevage en conditons semi-intensives 76

5.1.2.3. Lors de l'élevage en conditions intensives 77
5.2. Détermination de la meilleure durée pour la phase de transition vers un aliment artificiel 80
5.3. Effet d'un aliment artificiel sur les enzymes protéolytiques 81
VI. RESUME ET CONCLUSIONS 86

I. INTRODUCTION GENERALE

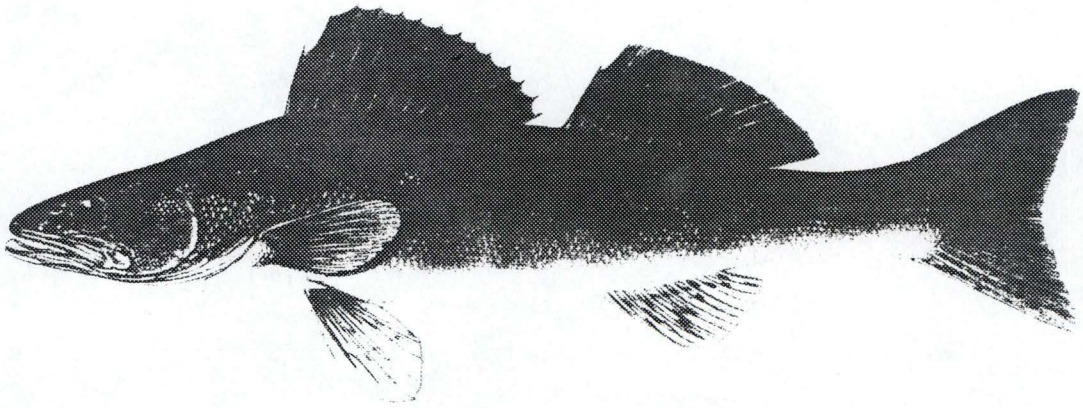


Figure 1.1 : Dessin schématique d'un sandre (*Stizostedion lucioperca*). Selon TEROFAL (1987).

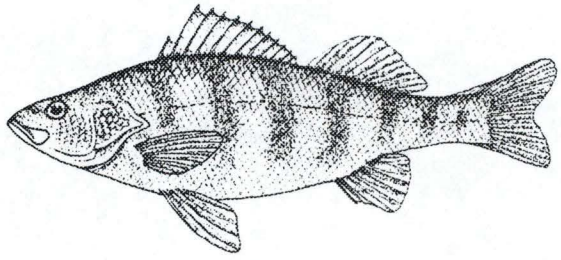


Figure 1.2: Dessin schématique d'une perchaude (*Perca flavescens*). Selon SAMUEL et JAMES, 1979.

I. INTRODUCTION GENERALE

Au cours des dernières années, beaucoup de nouvelles espèces de poissons ont attiré l'intérêt des professionnels de l'aquaculture mondiale (la production a augmenté de 9% ces dix dernières années: DABROWSKI, 1991 et BORN et alii, 1994). Ce regain d'attention est dû notamment à l'évolution, plus ou moins rapide selon les espèces, des techniques d'élevage, et à la facilité de production de la nourriture en grande quantité (WATANABE, 1985).

1. APERCU DE LA FILIERE DE CERTAINS PERCIDES

Parmi les percidés, le sandre (Fig. 1.1) européen (*Stizostedion lucioperca*) apprécié pour sa chair fine et sans arrêtes, surtout en France, est élevé dans des étangs avec de la nourriture naturelle, dans des buts de repeuplement, dans beaucoup de pays européens (SCHLUMBERGER et PROTEAU, 1991) en conditions intensives. Dans ce cas, la production de larves et de poissons adultes commercialisables est assez bien maîtrisée, sauf si l'on part de juvéniles issus d'étangs et que l'on veut les sevrer à l'aliment composé. C'est pourquoi on tente actuellement d'élever des larves avec des aliments artificiels (RUUHIJÄRVI, 1992).

Un marché rentable pour le sandre pourrait se développer si l'on arrive à l'élever intensivement, en induisant des pontes précoces et en diminuant l'intense cannibalisme existant entre les larves nourries à l'aliment artificiel, car ce sont les deux problèmes majeurs rencontrés avec cette espèce. Ce poisson a notamment une croissance et une taille adulte supérieures à celles de la perche fluviatile qui est aussi recherchée pour la consommation.

En dehors de l'Europe, d'autres percidés attirent l'attention des pisciculteurs :

• la perchaude (Fig. 1.2) ou perche jaune d'Amérique (*Perca flavescens*) est recommandée pour l'acceptation assez facile d'aliments artificiels de sa part, pour son manque de cannibalisme et pour sa tolérance à l'environnement typique d'une pisciculture intensive (DABROWSKI, 1994). Lors de son élevage, la difficulté principale est le sevrage précoce des larves vers une alimentation artificielle. Cependant, ce problème peut être contourné en commençant l'élevage larvaire par un passage en étang fertilisé, ce qui augmente le taux de survie. Actuellement,

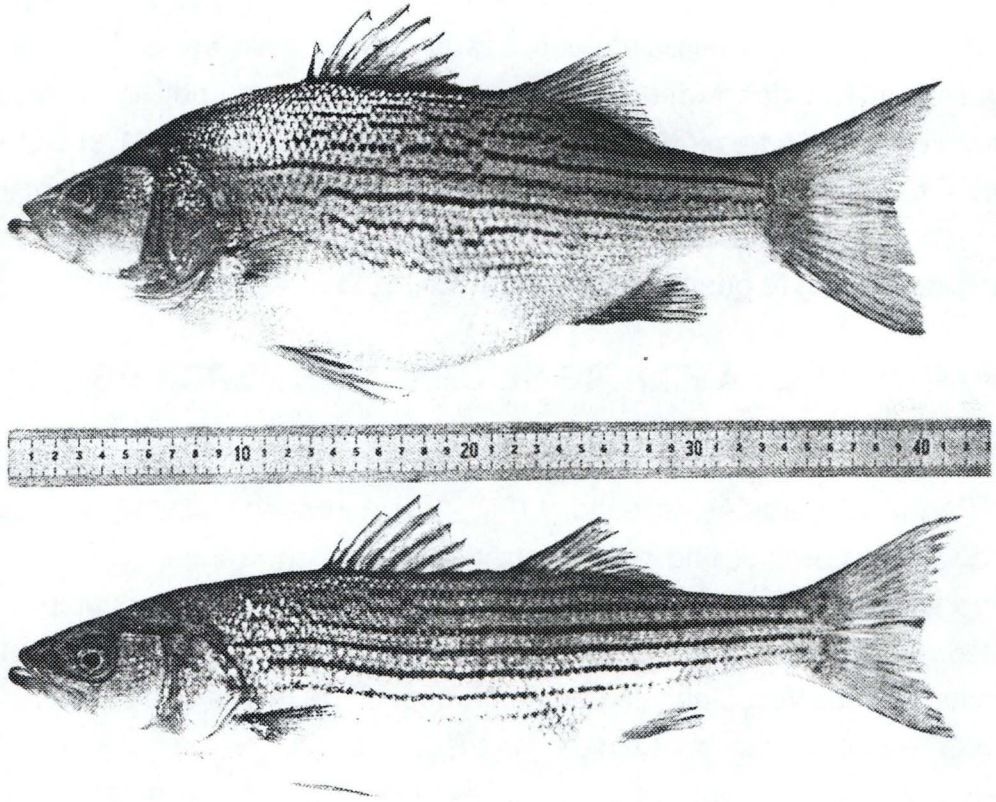


Figure 1.3 : Comparaison d'un bar hybride (bar rayé X bar blanc) avec un bar rayé. Modifié d'après KERBY (1972).

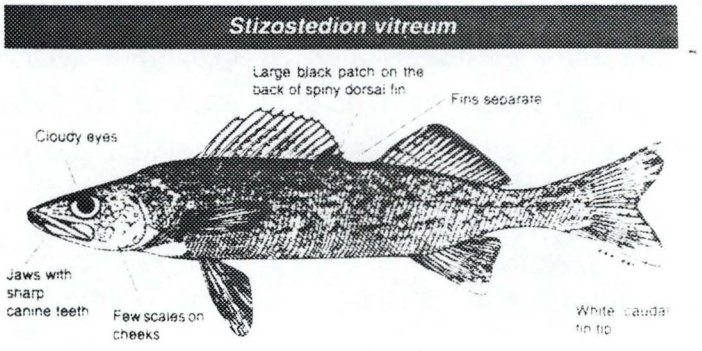


Figure 1.4 : Morphologie externe d'un doré jaune adulte
Schéma tiré de TWIN LINE, vol.16, n°1, février 1994.

le marché de ce poisson tend à s'accroître, car le transfert de la technologie développée en laboratoire vers une pisciculture industrielle se réalise progressivement (NCRAC announcement, 1992).

• le bar rayé (ou striped bass, *Morone saxatilis* ,Fig. 1.3) a fait l'objet d'études sur l'élevage larvaire intensif et sur le grossissement de juvéniles produits à partir de larves de 5 jours élevées dans des étangs. Cependant, l'élevage larvaire en tanks avec de l'aliment artificiel n'est pas encore contrôlé (CONSTANCE, 1992 et Mac CRAREN, 1984). Sa production aux U.S.A. était de 130 tonnes en 1990 (RAGOet alii, 1990).

• le bar rayé hybride (mâle *Morone saxatilis* X femelle *Morone Chrysops*, Fig. 1.3) suscite beaucoup d'intérêt dans la région nord centrale de l'Amérique du Nord, car il accepte des aliments composés au stade juvénile et est relativement résistant aux maladies. En 1992, une forte demande de la part des consommateurs pour ces hybrides a amené la production de poissons de taille consommable à environ 3,6 millions de tonnes en Amérique du Nord (NCRAC annoucement, 1992).

• le bar rayé hybride réciproque (femelle *Morone saxatilis* X mâle *Morone Chrysops*) semble offrir encore plus d'opportunités pour la perciculture intensive, car il est plus facilement manipulable et plus rapidement mature, face à l'autre hybride.

• le doré jaune (ou walleye, *Stizostedion vitreum*, Fig. 1.4) accepte assez bien l'aliment artificiel lorsque ses larves sont élevées jusqu'à 100 mm dans des étangs fertilisés puis dans des auges et des raceway avec eau recyclée (CHESHIRE et STEELE, 1972). Néanmoins, au-delà de 50 à 100 mm, les larves deviennent fortement cannibales, à moins de les nourrir tôt à l'aliment composé (COLESANTE et alii, 1986, cité par BARROWS et alii, 1988). Cela est relativement bien maîtrisé à petite échelle (LOADMAN et alii, 1986) bien qu'il persiste encore des problèmes liés à un mauvais gonflement de la vessie natatoire des larves (SUMMERFELT, 1991). Récemment, des études sur la consommation d'oxygène et le taux de production d'ammonium, lié à la fréquence de nourrissage, ont eu lieu, en vue de l'élevage intensif de juvéniles pour la production de poissons consommables (YAGER ET SUMMERFELT, 1993).

2. ETAT ACTUEL DE LA PISCICULTURE DE LA PERCHE

La perche (*Perca fluviatilis*), poisson très prisé sur le plan gastronomique, possède en Europe un marché qui dépasse actuellement 5000 tonnes par an. De plus, la demande est en augmentation assez accentuée selon le lieu et d'après la nature des demandeurs (TAMAZOUZT et alii, 1993). En effet, la pêche dans les milieux naturels, surtout dans les lacs alpins, la seule source de perche en filets, est vite devenue trop intense et peu rentable à long terme (SPANGLER et alii, 1977). Cela rend nécessaire la pisciculture intensive de ce poisson. Elle permettra d'améliorer le marché du repeuplement et celui du poisson de consommation, tout en limitant l'exploitation des stocks naturels.

D'un point de vue pratique, la reproduction et le grossissement, en conditions intensives ou semi-intensives, sont assez bien maîtrisées. En fait, de nombreuses études ont été réalisés sur la perchaude (*Perca flavescens*), l'équivalent biologique américain de la perche (THORPE, 1977), et leurs résultats prometteurs sont transposables à la perche (GOUBIER et MARCHANDISE, 1989). Cependant, ces recherches sont moins avancées pour ce qui est de l'élevage larvaire intensif, car un point de blocage principal est l'acceptation et l'efficacité de l'alimentation artificielle, assez tôt chez les larves.

C'est dans ce cadre que se situe notre travail, et plus particulièrement dans un essai visant à déterminer le poids moyen adéquat au sevrage des larves de perche, c'est-à-dire le moment à partir duquel les larves peuvent être nourries exclusivement avec un aliment artificiel, sans provoquer une hausse de la mortalité ou un retard de croissance. Ainsi, une de nos expériences consiste à étudier l'effet du transfert de l'aliment naturel à l'aliment artificiel, en conditions intensives, à différents moments selon les lots, sur des paramètres zootechniques et biochimiques des larves.

Une meilleure connaissance des capacités des larves à digérer les aliments fournis, selon leur qualité ou leur quantité, est très utile dans l'élaboration de schémas d'alimentation larvaire. C'est pourquoi nous allons étudier plus précisément le problème de la digestion des aliments artificiels. En ce qui concerne l'ingestion ou l'absorption intestinale, nous nous baserons sur des observations indirectes. En réalité, nous analyserons l'évolution des activités des enzymes protéolytiques, sachant que ce sont eux qui permettent principalement à un aliment d'être efficacement digéré puis absorbé.

Pour ce qui est du travail écrit, voici décrite brièvement son organisation générale et son contenu;

Ce travail comprend trois grandes parties :

- La première partie est surtout théorique puisqu'elle consiste en la synthèse bibliographique. Dans celle-ci seront développés plus spécialement les paragraphes discutant du développement du tractus digestif des larves de perche, ceux au traitant de la digestion (surtout en termes d'activité enzymatique) et de l'absorption des aliments, ainsi que ceux parlant des aliments artificiels et de l'élevage intensif. Ceux-ci sont en effet complémentaires et d'un grand intérêt pour la compréhension de la suite.

- La seconde partie est constituée par le côté pratique de nos expériences, c'est-à-dire la description des moyens expérimentaux mis en œuvre et l'explication des protocoles utilisés pour les expériences.

- La troisième partie traite d'une façon critique les résultats et comprend la conclusion générale ainsi que des perspectives d'avenir pour la pisciculture de la perche fluviatile, en conditions intensives.

II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

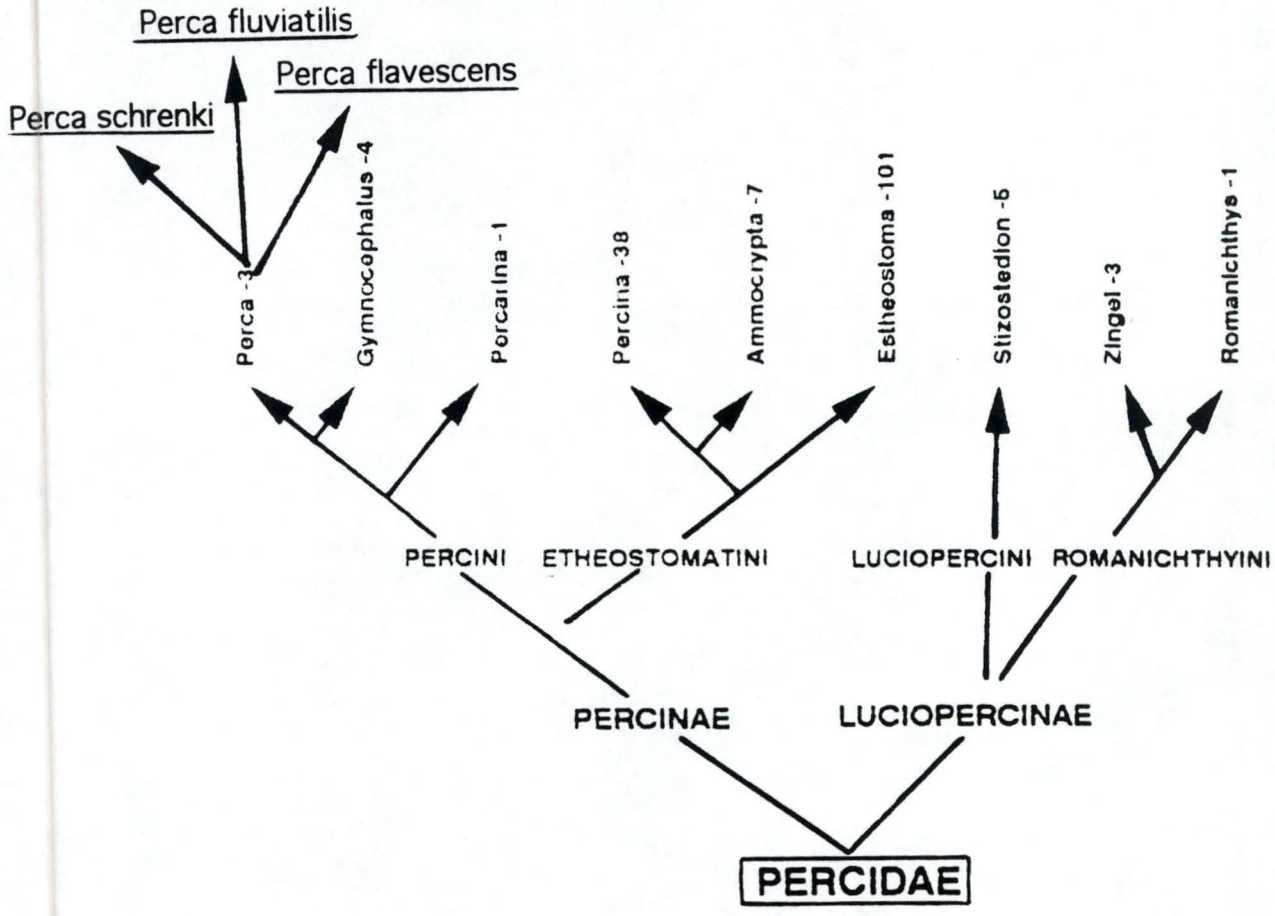


Figure 2.1: Relations entre les sous-familles, tribus et genres de la famille des percidés. Le nombre d'espèces est indiqué pour chaque genre (COLLETTE et BANARESCU, 1977).

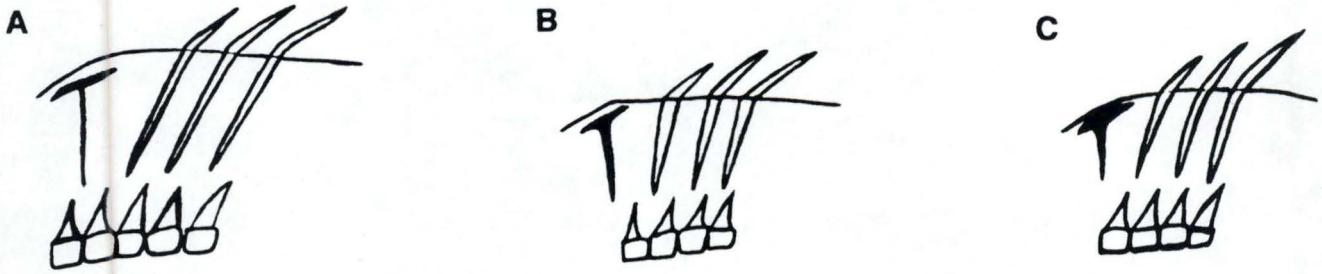


Figure 2.2: Position relative de l'os prédorsal (en noir) par rapport à l'épine neurale des quatres premières vertèbres et aux ptérygiophores supportant les trois épines dorsales antérieures de la perche. **A**: *Perca flavescens*; **B**: *Perca fluviatilis*; **C**: *Perca schrenki*. Modifié selon COLLETTE et BANARESCU (1977).

II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. PRESENTATION DE LA PERCHE FLUVIATILE (*PERCA FLUVIATILIS*) ET ETAT ACTUEL DE SA PISCICULTURE

1.1. POSITION SYSTEMATIQUE ET DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE

Taxonomie :

Règne :	Animal
Phylum :	Chordé
Subphylum :	Vertébré
Super-classe :	Gnasthostome (car mâchoire)
Grade :	Poisson
Classe :	Ostéichthyen (car squelette osseux)
Sous-classe :	Actinoptérygien (car nageoires dorsale et anale, et plaque jugulaire)
Infra-classe :	Néoptérygien
Division :	Halécostome
Subdivision :	Téléostéen
Infra-division :	Eutéléostéen
Super-ordre :	Acanthoptérygien (car absence de weber)
Ordre :	Perciforme
Famille :	Percidé
Genre :	***Perca***
Espèce :	***Perca fluviatilis*** (Linnaeus, 1758)

La perche fluviatile (*Perca fluviatilis* Linnaeus, 1758), aussi appelée perche européenne ou perche commune est, avec la perchaude (*Perca flavescens* Mitchill, 1814) et la perche des Balkans (*Perca schrenki* Lessler, 1874) une des trois espèces du genre *Perca* et une des 121 espèces de la famille des percidés (Fig. 2.1). Bien que la perche fluviatile et la perchaude se distinguent par la position relative de l'os prédorsal (Fig. 2.2) qui est entre la première et la seconde épine neurale chez la seconde et en avant de la première épine neurale chez la première (COLLETTE et BANARESCU, 1977), elles sont très proches pour toutes les autres caractéristiques, sauf pour la distribution géographique (STICKNEY, 1986).

Distribution géographique :

La perche fluviatile est originaire du Kazakhstan dont l'est est encore occupé par la perche des Balkans, et est apparue lors de l'ère tertiaire. Elle se trouve actuellement en Europe et en Asie du Nord. En Europe, sa distribution est limitée

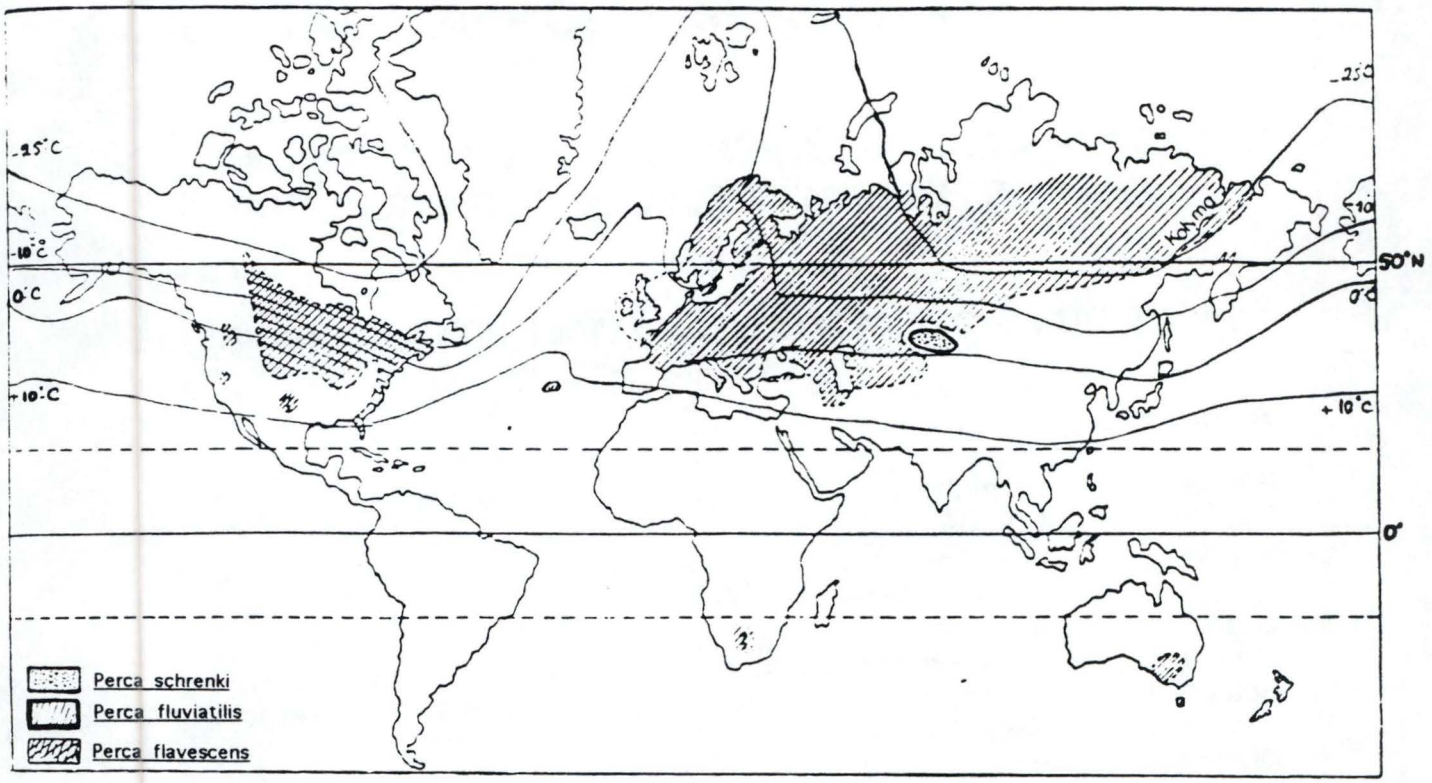


Figure 2.3: Distribution de *Perca schrenki*, de *Perca fluviatilis* et de *Perca flavescens*. Mise en évidence des isothermes de janvier. Modifié selon THORPE (1977).

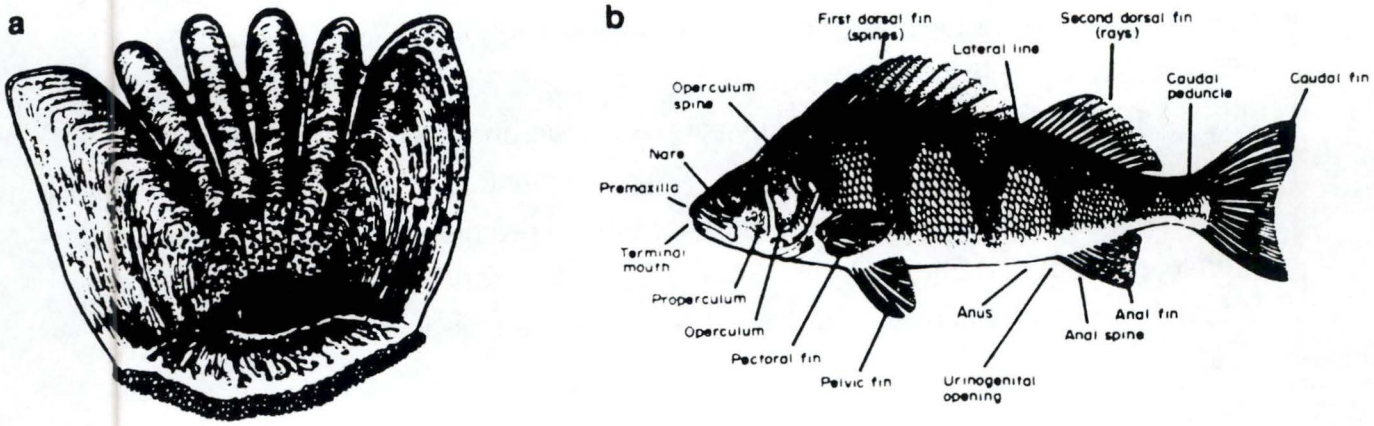


Figure 2.4: **a**: forme d'une écaille cténoïde de perche (*Perca fluviatilis*).
b: apparence externe de la perche.
D'apès CRAIG (1987).

Tableau II.1: Quelques caractéristiques de la perche fluviatile (*Perca fluviatilis*).

Paramètre	Valeur	Auteur
Longueur	20 à 35 cm (max. 51 cm)	TEROFAL, 1987
Poids	0,3 à 2 kg (max. 6 kg)	TEROFAL, 1987
Maturation des gonades	entre 6 et 25°C (après 160 jours à moins de 10°C)	GOUBIER et MARCHANDISE, 1989
Fécondité	130 000 à 140 000 oeufs/kg (max. 170 000)	GOUBIER et MARCHANDISE, 1989
Sperme	4 à 13.10^{10} spermatozoïdes/ml	GOUBIER et MARCHANDISE, 1989
Taille des oeufs	1 à 2 mm avant la fécondation 1,9 à 2,8 mm après la fécondation	GOUBIER et MARCHANDISE, 1989
Maturation des oeufs	130 à 270 °C-jours	TEROFAL, 1987
Taille des larves à l'éclosion	4,07 à 6,70 mm	TEROFAL, 1987
Poids des larves à l'éclosion	0,98 ± 0,2 mg	FIOGBE, 1994

Tableau II.2: Exigences écologiques de la perche (*Perca fluviatilis*).

Paramètre	Valeur	Auteur
Température	22-28°C = optimum	CRAIG, 1987
O_2	proche de la saturation chez les adultes	CRAIG, 1987
	min. : 1,1 à 1,3 mg/l à 16°C	CRAIG, 1987
	larves : 8,5 mg/l à 20°C = optimum	DALIMIER et *al.*, 1982
pH	7 = optimum et 5 = minimum	CRAIG, 1987
Mode de vie	jeunes : grégaires adultes : solitaires	BRUYLANTS et *al.*, 1986
Régime alimentaire	omnivore et puis carnivore	CRAIG, 1987

au nord par les îles anglaises et la Norvège (à cause de la température) et, au sud, par les Pyrénées (barriére physique) et par l'Italie (Fig. 2.3 ; COLLETTE et alii., 1977). Elle fut introduite dans les Açores, en Afrique du Sud, en Australie, en Tasmanie et en Nouvelle-Zélande. Elle se rencontre environ aux mêmes latitudes que sa proche parente, la perchaude américaine (CRAIG, 1987).

1.2. BIOLOGIE ET EXIGENCES ECOLOGIQUES

Biologie :

La perche fluviatile a un corps ramassé et comprimé latéralement, soutenu par 41 à 43 vertèbres (SPILLMANN, 1961) et recouvert d'écailles cténoïdes (Fig. 2.4 a). Elle a deux nageoires dorsales : une antérieure à 13-15 rayons et épineuse et une postérieure, souple. Sa coloration varie du gris-vert au jaune pour le dos et les flancs, le ventre étant plus clair. Ses flancs sont irisés et décorés par 6 à 9 bandes transversales noires (Fig. 2.4 b). On a montré que la courbure du dos et la coloration de la *perche* variaient avec l'habitat (CRAIG, 1987).

Il faut noter que la femelle est plus grosse que le mâle, surtout au printemps. Dans le tableau II.1 sont résumées d'autres caractéristiques de la perche fluviatile.

Exigences écologiques :

La perche fluviatile affectionne de nombreux écosystèmes oligosaprobies (DAJOZ, 1985) envahis de végétation dans laquelle elle peut se dissimuler. Cela varie de la tête de rivière au lac de barrage. Le tableau II.2 rassemble quelques-unes des exigences de la perche.

En ce qui concerne son mode de vie, une étude de WHITESIDE (1985) a montré que la perchaude, ayant les mêmes habitudes que la perche commune, se reproduisait dans la zone littorale et que ses larves migraient assez rapidement dans la zone pélagique où elles pouvaient se nourrir de zooplancton, surtout de copépodes, et où elles évitaient la prédation par les adultes. En 40 jours, elles passaient de 6 à 25 mm et, vers le quarantième jour, elles retournaient dans la zone littorale où elles se nourrissaient en plus grande quantité et de tous types de zooplancton, celui-ci étant plus abondant à cet endroit (Fig. 2.5).

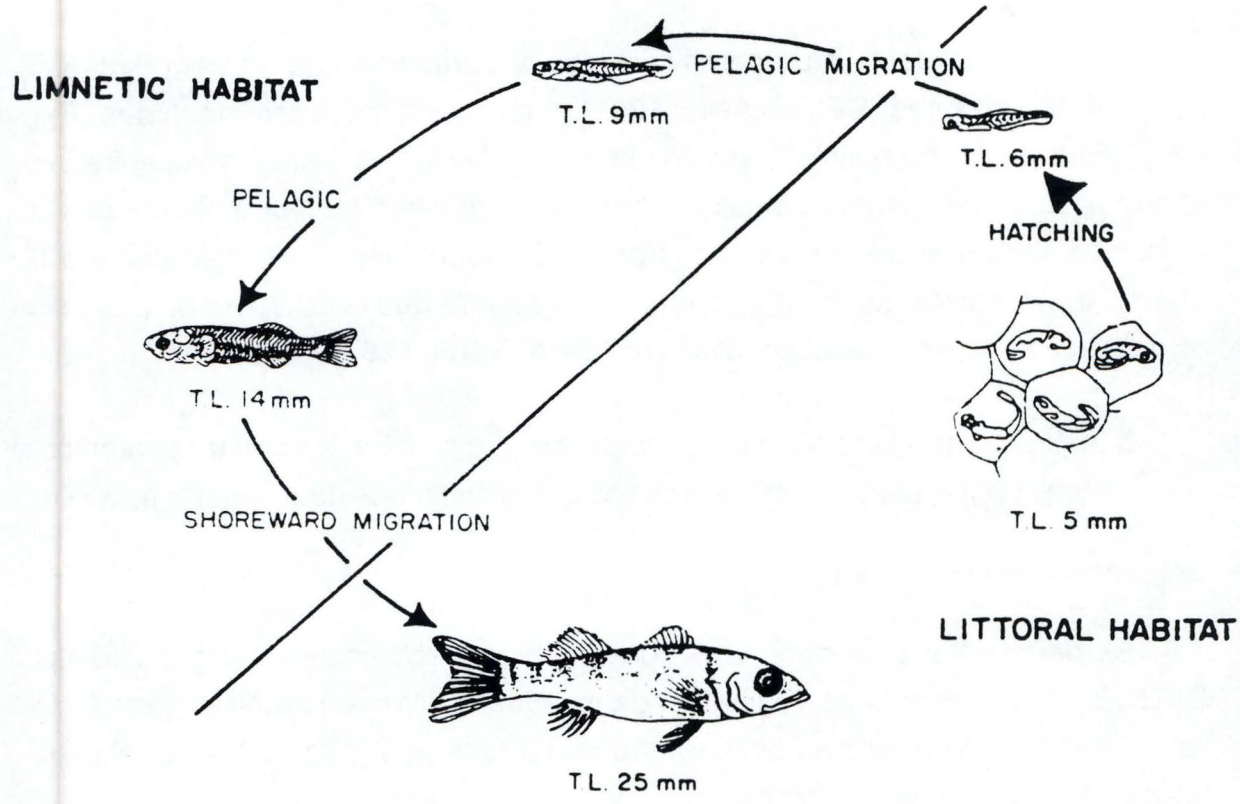


Figure 2.5: Changement d'habitat chez la perchaude (*Perca flavescens*) dans ses jeunes stades (WHITESIDE, 1985).

Note: T.L. = longueur totale du poisson.

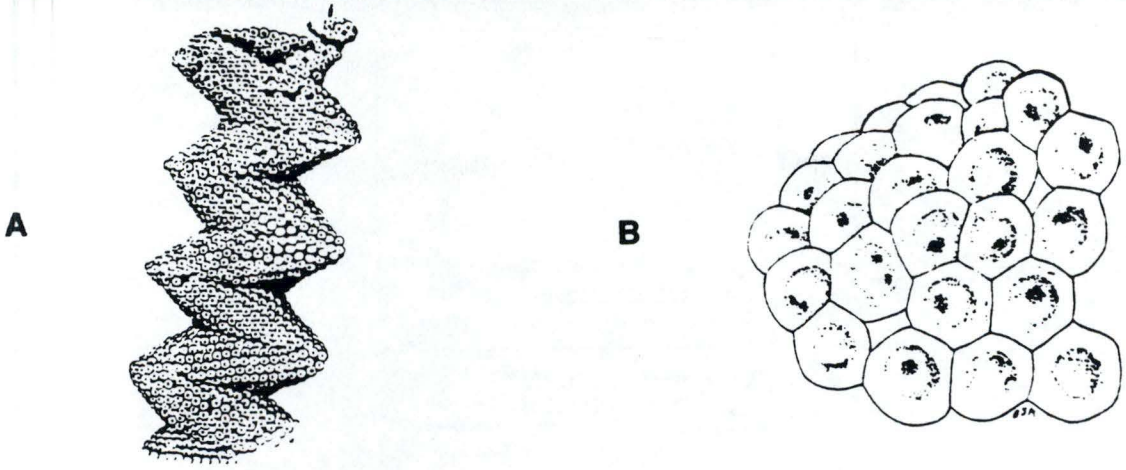


Figure 2.6: **A**: Structure formée par les oeufs de perchaude (*Perca flavescens*); (WORTH, 1892, tiré de MANSUETI, 1964).
B: Groupe d'oeufs de perchaude (MANSUETI, 1964).

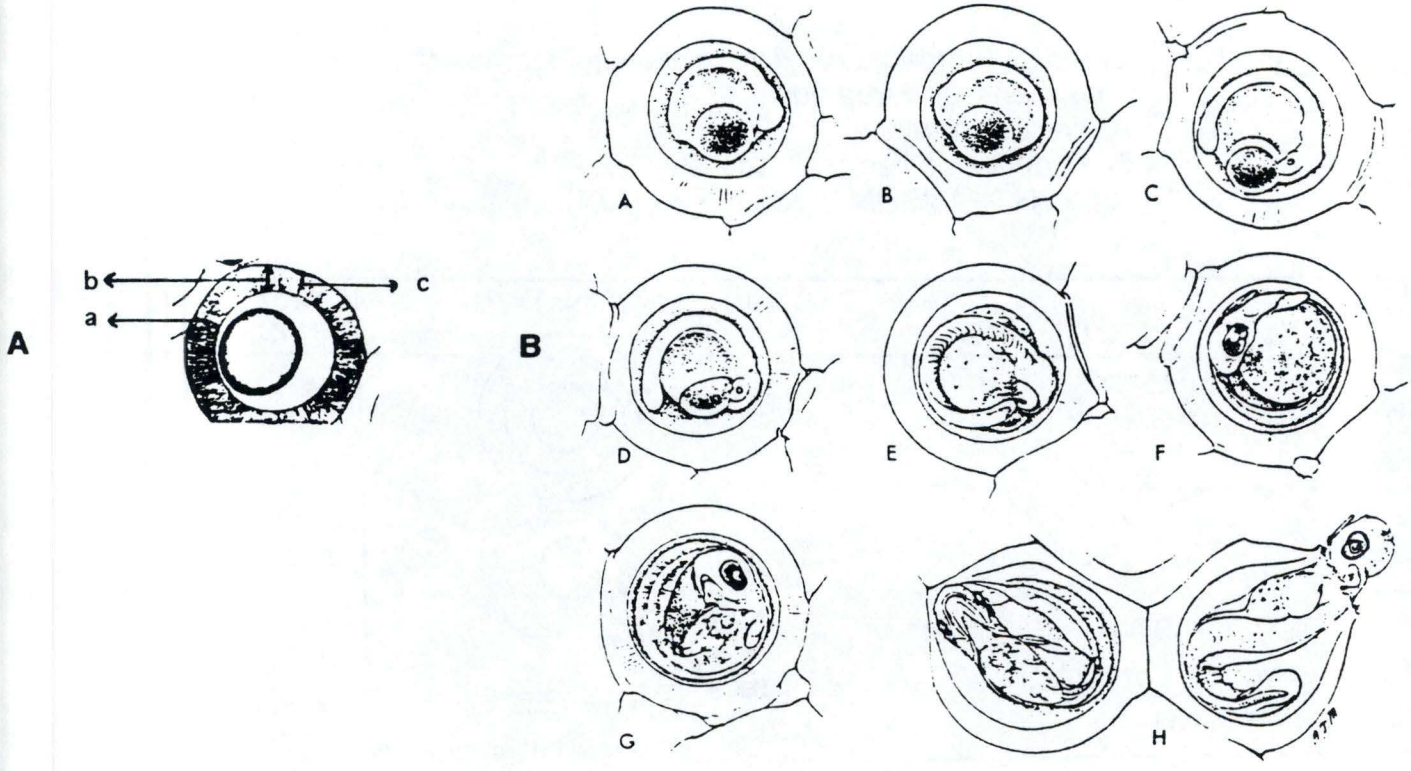


Figure 2.7: **A**: Coupe transversale d'un oeuf de perchaude avec:
(**a**): couche adhésive mince
(**b**): épaisse couche moyenne élastique
(**c**): micropyle

B: Derniers stades de développement d'oeufs de perchaude (*Perca flavescens*); Ø des oeufs = 2 mm.approximativement
A-D: embryons jeunes de 69 h. à 144 h. après la fécondation, pour une température d'incubation de 8,5 à 12°C.
E-H: embryons plus âgés, de la formation des myotomes à l'éclosion.
Selon RYDER (1887), tiré de MANSUETI (1964).

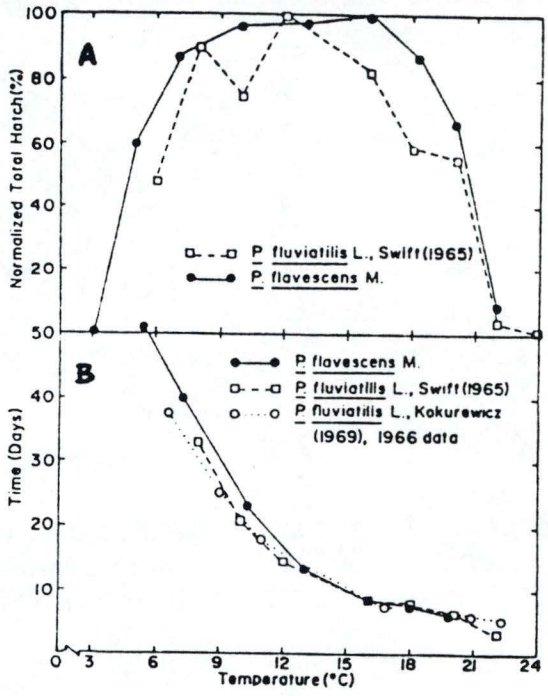


Figure 2.8: Effets de températures d'incubation constantes chez *Perca flavescens* et *Perca fluviatilis* sur:
A: l'éclosion totale.
B: la durée de l'éclosion massive
Selon HOKANSON et KLEINER (1974).

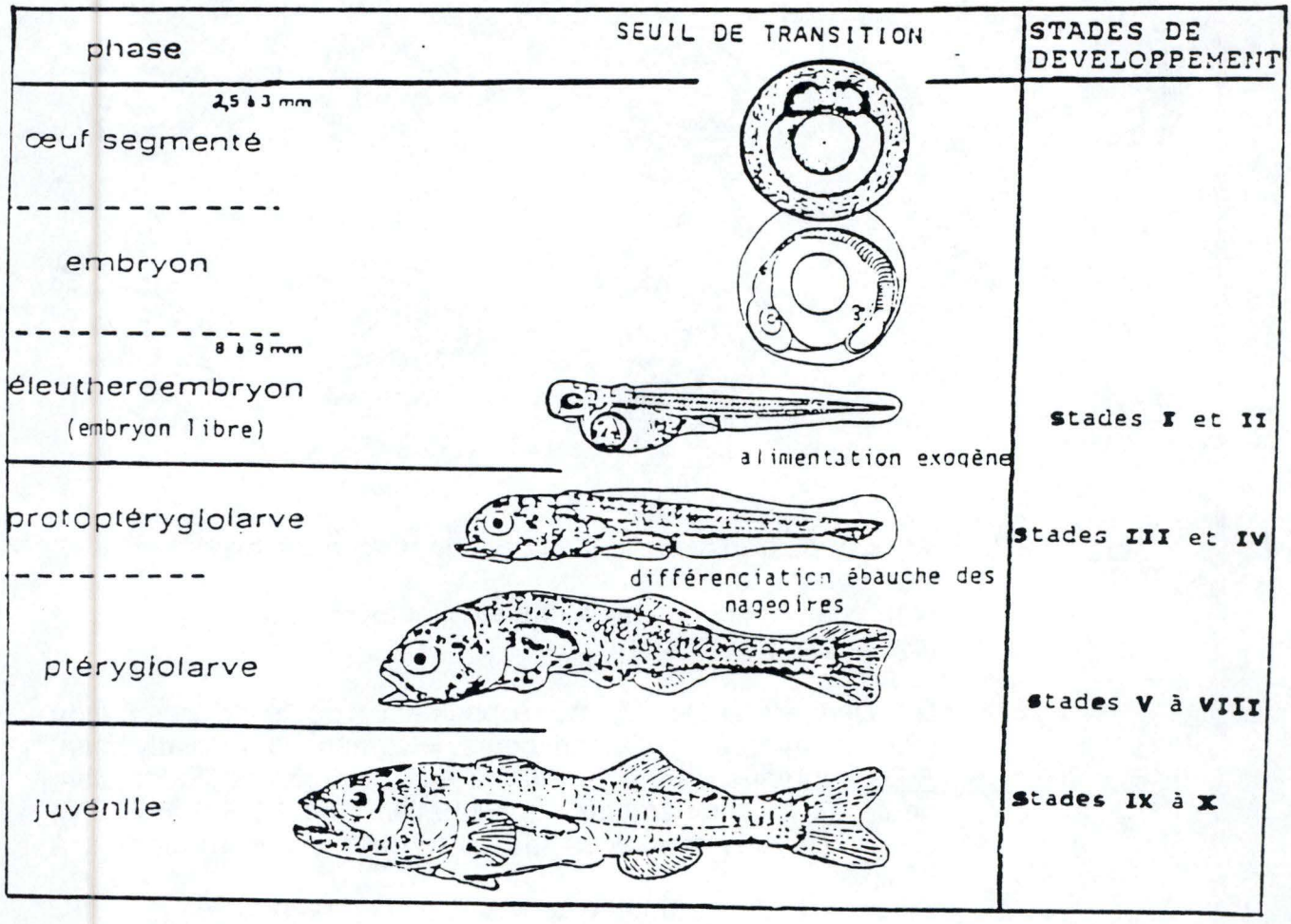


Figure 2.9: Terminologie des différents stades étudiés (BALON, 1975).

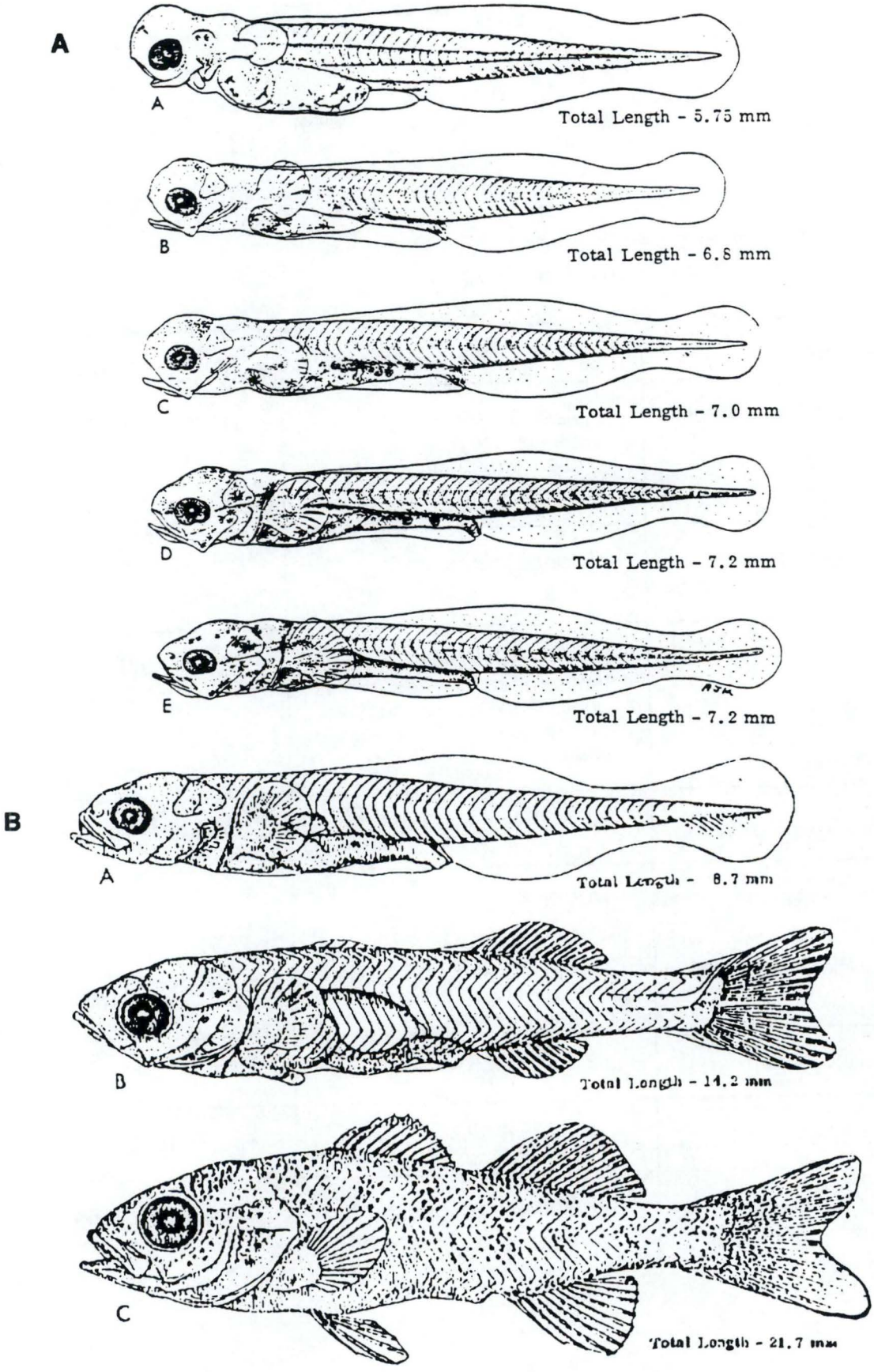


Figure 2.10: **A**: Stades larvaires de la perchaude (*Perca flavescens*) :
A-C: prolarves
D-E: postlarves

B: Stades suivants:
A: postlarve juste avant la métamorphose
B: jeune perchaude avec toutes ses nageoires
C: juvénile presque complètement métamorphosé
(D 'après MANSUETI, 1964).

Tableau II.3: Quelques paramètres de la reproduction de la perche (*Perca fluviatilis*)

Paramètre	Valeur	Auteur
Age de la maturation sexuelle	mâles : 0+ à 2+ femelles : 2+ à 3+ (mais variations selon le biotope)	THROPE, 1977
Type de développement des gonades	ovogenèse synchrone	CRAIG, 1987
Frai	début en fonction de la température, de la photopériode, du substrat, du niveau et de la vitesse de l'eau	WEST, 1977
Sexe ratio	1/1	DALIMIER et *al.*, 1982
Température d'incubation des oeufs	10 à 20°C	GOUBIER et MARCHANDISE, 1989
Température lors de l'éclosion	12 à 20°C (pour une meilleure survie) et 18 à 20°C (pour une meilleure longueur)	WANG et ECKMAN, 1994
O_2 lors de l'incubation	supérieure à 3,4 mg/l	CRAIG, 1987
pH lors de l'incubation	supérieur à 6	RASK, 1983
Substrats naturels pour les oeufs	végétation ou débris	MANSUETI, 1964

1.3. REPRODUCTION, EMBRYOGENESE ET DEVELOPPEMENT LARVAIRE

La perche fluviatile est une espèce à reproduction synchrone printanière qui fréquente les milieux mésotrophes (LEACH et alii, 1977) et oligotrophes pour se reproduire (LESSMARK, 1983). Dans le tableau II.3 sont regroupés quelques paramètres de sa reproduction.

Les oeufs de la perche fluviatile sont reliés par une gaine gélatineuse qui les protège des chocs mécaniques et des prédateurs (Fig. 2.7 a; MANSUETI, 1964). Ces oeufs forment de ce fait une structure complexe en forme de ruban (Fig. 2.6 a et b). Les grosses perches pondent de plus gros oeufs qui donneront des larves plus grandes à l'éclosion (MARCHANDISE, 1989), comme c'est le cas avec le bar rayé (ELDRIDGE et alii, 1982). La durée de l'incubation et la réussite de l'éclosion sont liées à la température de l'eau comme le montrent les Fig. 2.8 a et b. Les températures létales pour l'éclosion totale sont de 6,1 et 20,2°C (= TL_{50}). Les plus grandes longueurs à l'éclosion se rencontrent avec une température d'incubation de 7,1 à 13,1°C (HOKANSON et KLEINER, 1974).

Le développement embryonnaire est aussi dépendant de la température. Les différentes étapes sont schématisées à la Fig. 2.7 b (la terminologie employée est celle de BALON (1975) et elle est illustrée à la Fig. 2.9). La phase embryonnaire est séparée de la phase éleutéro-embryonnaire par l'éclosion, de la même manière que l'alimentation exogène et la fin de la résorption de la vésicule vitelline font passer de la deuxième phase à la phase protoptérygiolarvaire. La phase ptérygiolarvaire est atteinte quand les nageoires paires commencent à se former. Ce n'est que lors de la métamorphose de la larve en juvénile que les nageoires impaires apparaissent. Souvent, la larve est dénommée prolarve avant l'alimentation exogène (stades A, B et C sur la Fig. 2.10 a) et postlarve quand sa vésicule est complètement résorbée et avant que les nageoires ne s'individualisent (stades D et E, Fig. 2.10 a et stade A, Fig. 2.10 b).

1.4. ALIMENTATION DES LARVES ET DES JUVENILES EN MILIEU NATUREL

D'abord, il est intéressant de connaître les effets de quelques facteurs environnementaux sur le taux de développement, le métabolisme et la croissance au sens large des larves et des juvéniles. Ceux-ci peuvent être divisés en 2 types.

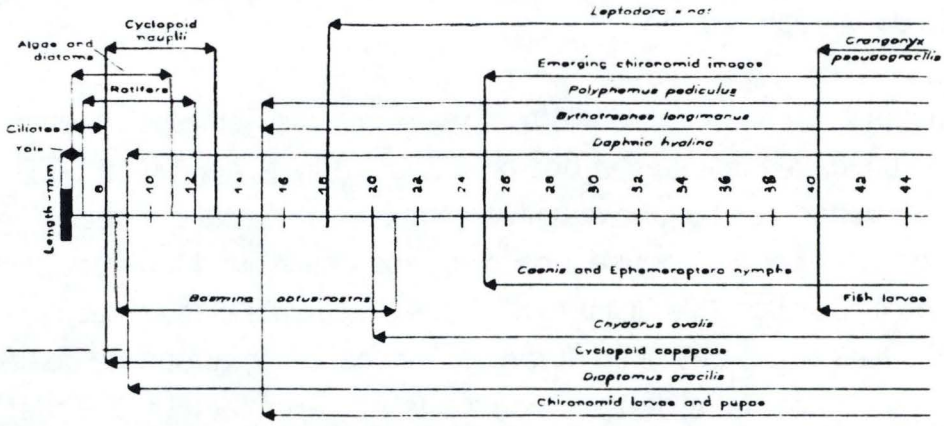
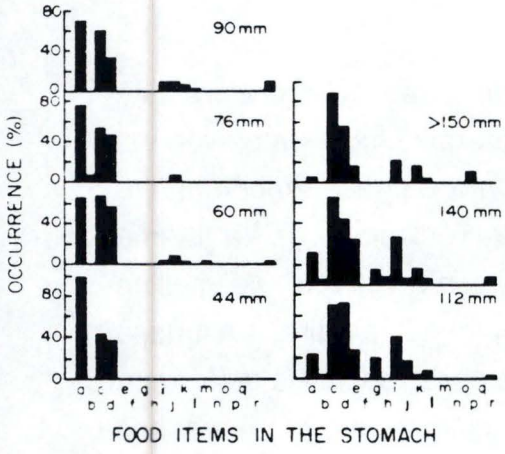


Figure 2.11: Evolution des proies ingérées au cours du premier été pour des perches (*Perca fluviatilis*) du lac Windermere en Angleterre (GUMA'A, 1978).



(**a**): plancton;(**b**):*Chaoborus*;(**c**): larves de chironomidés;(**d**): pupes de chironomidés;(**e**): *Asellus*;(**f**): *Sialis*;(**g**): larves de trichoptères;(**h**): *Hydroporus*;(**i**): nymphes d'éphéméroptères; (**j**):*Corixa*;(**k**): autres;(**l**): restes d'insectes;(**m**): *Hirudinea*; (**n**):tubificidés;(**o**): *Perca*;(**p**): *Scardinius/Rutilus*;(**q**): restes de poisson;(**r**): vide.

Figure 2.12: Fréquence des différents types de proies de la perche (*Perca fluviatilis*) selon la longueur de ce poisson (CRAIG, 1974).

Il y a ceux agissant plus particulièrement lors de la période d'alimentation exogène des larves; ce sont la température, la concentration de l'eau en oxygène et en sels, la luminosité et la taille de l'oeuf. Les autres facteurs s'expriment davantage quand l'alimentation est exogène; ce sont la quantité et la qualité des aliments, la température, la disponibilité en aliments, le taux de consommation et la taille du corps. Tous ces facteurs présentent des valeurs optimales et peuvent donc avoir des influences négatives à court ou à long terme, s'ils sont trop élevés.

Comme l'indique la Fig. 2.11 de GUMA'A (1978), la nourriture ingérée par de jeunes perches (0+) est composée d'abord d'algues, de ciliés, de rotifères et de nauplii de copépodes et puis de larves et de pupes de macroinvertébrés, surtout de chironomes et d'éphéméroptères. Très tôt ou plus tardivement selon les larves, les poissons, souvent des épinoches, des vairons et des perches enrichiront le régime alimentaire (Fig. 2.12). Des observations similaires furent obtenues par CHAPPAZ et alii (1989) lors d'une étude dans le lac de Sainte-Croix et par GUTTI (1993) dans une recherche sur le fleuve Danube. Le comportement alimentaire opportuniste et adaptable de la perche est prouvé par le fait que la sélection des ses proies est liée à leur disponibilité. En effet, DABROWSKI et alii (1991), en suivant des perchaudes en étang, ont remarqué que les copépodes calanoïdes dominaient dans leur régime jusqu'à une taille de 34 à 44 mm. Ensuite, c'étaient les daphnies puis les copépodes cyclopoïdes. Ils concluèrent que cela reflétait à la fois la succession du zooplancton dans les étangs et les préférences des perchaudes. Cela est en accord avec les observations réalisées par MILLS et CONFER (1986).

WU et CULVER (1992) pensent que le changement de régime alimentaire pendant l'ontogenèse, par exemple lorsque la larve dédaigne le zooplancton au profit des larves de macroinvertébrés benthiques, est dû, soit à une diminution de l'abondance du zooplancton, soit à un réflexe déterminé génétiquement, cette deuxième hypothèse étant surtout soutenue par POST et MAC QUEEN (1988). Cela pourrait expliquer le comportement migratoire des jeunes perchaudes dans le lac Oneida (MILLS et FORNEY, 1981; MILLS et alii, 1987).

En fait, les jeunes perches qui deviennent des prédatrices pélagiques diurnes avec l'âge, dépensent beaucoup d'énergie dans la recherche et la capture des proies car ce sont des chasseuses visuelles. Ainsi, FURNASS (1979) a remarqué que les larves de perche n'optimisaient pas leur prise d'énergie par effort de capture dans le sens où elles ne s'attardaient pas à chasser des proies dans un endroit où ces dernières étaient plus abondantes ou plus grandes. Nous pouvons

résumer en disant que les larves de perche sont imprudentes dans leur sélection active des proies. Selon GOUBIER et MARCHANDISE (1989), il y aurait en réalité une taille optimale des proies définie par les capacités de digestion de la larve. Néanmoins, GRAHAM (1992) a montré que les jeunes dorés jaunes (=walleyes,*Stizostedion vitreum*), autres percidés américains, consommaient du zooplancton plus gros lorsqu'ils croissaient en longueur, et qu'ils restaient constants dans leur choix par la suite. Cette observation démontre que les percidés ont différentes stratégies pour optimiser leur croissance.

1.5. ETAT ACTUEL DE LA PISCICULTURE DE LA PERCHE

Ce poisson qui fait l'objet d'exploitation halieutique intense (SPANGLER, 1977) suscite un intérêt croissant en pisciculture, pour la pêche sportive et la consommation. Son succès relatif en gastronomie est dû entre autres à sa faible teneur en graisse et au fait qu'il est apte au filetage et à la congélation de longue durée sans altération de son goût très fin. De plus, son prix de vente assez élevé (environ 200 FB à la pêcherie) pourrait permettre le développement durable de son marché (FIOGBE, 1994).

Des essais ont démontré sa remarquable acceptation du confinement en circuit fermé et en cages flottantes (TAMAZOUZT et alii, 1993). Sa fécondité relativement élevée et la facilité de sa reproduction en captivité font que sa pisciculture en conditions extensives ou semi-intensives s'est développée ces dernières années. Selon le Laboratoire de Biologie Appliquée de Nancy, la perche a de très bonnes potentialités pour l'élevage en masse sur aliment artificiel. Un élevage intensif en conditions contrôlées permettrait en effet de mieux rentabiliser l'aquaculture de ce poisson. Cependant, la fragilité extrême des larves de perche rappelant celle de certains poissons marins rend son élevage larvaire un peu aléatoire et onéreux. Aussi, de nombreux problèmes au niveau de sa pisciculture existent encore: contrôle insuffisant du cycle de reproduction, faible croissance larvaire, cannibalisme assez élevé entre larves, variations de croissance et poids moyen au sevrage assez élevé an conditions intensives (FONTAINE et alii, 1993).

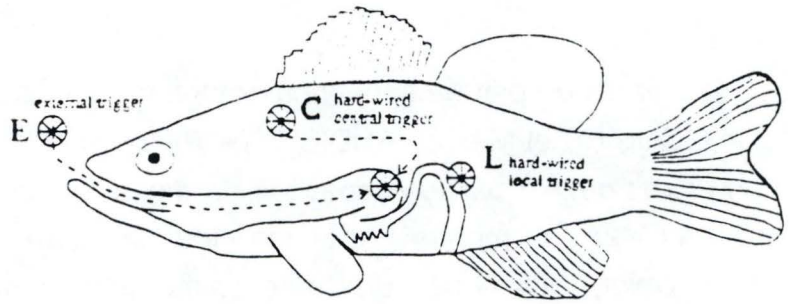


Figure 2.13: Métamorphose du tractus digestif et modification de la sécrétion des enzymes digestifs (DABROWSKI, 1986, tiré de DIAMOND, 1991).
E: externe; non programmé mais déclenché par un agent externe.
C: central; préprogrammé par une substance libérée centralement (par exemple, par une glande endocrine).
L: local; préprogrammé par une minuterie locale dans le tractus digestif.

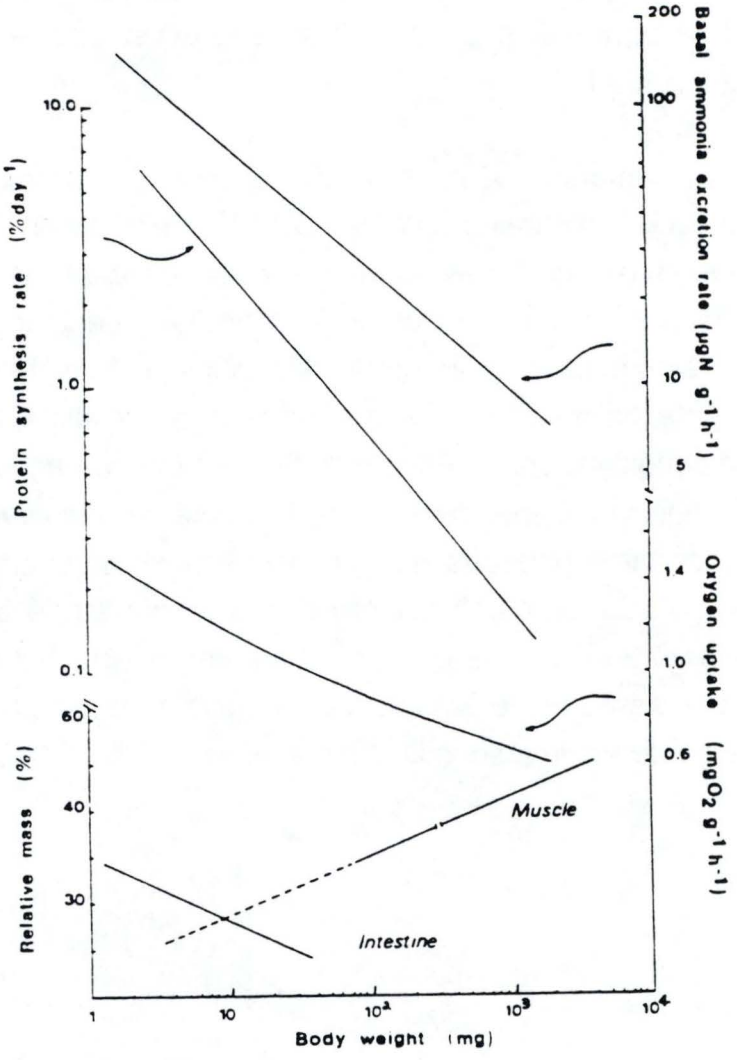


Figure 2.14: Changements ontogéniques dans le métabolisme d'un poisson et proportion pondérale des tissus (DABROWSKI, 1986).

2. PHENOMENES IMPORTANTS LIES AU DEVELOPPEMENT LARVAIRE

2.1. LA COORDINATION DES CHANGEMENTS MORPHOLPHYSIOLOGIQUES PENDANT LE DEVELOPPEMENT LARVAIRE

La croissance en nombre et en grandeur des entérocytes est coordonnée et suggère la présence d'un facteur régulateur qui dirige les cellules préprogrammées génétiquement. Ce signal consisterait en des facteurs de l'environnement externe (facteurs extrinsèques) et/ou interne (facteurs centraux ou locaux) au poisson (DABROWSKI et CULVER, 1991). Un facteur extrinsèque (E) (Fig. 2.13) serait le taux d'ingestion; son augmentation engendrerait des interactions supplémentaires entre enzymes et substrats et stimulerait donc la muqueuse du tube digestif (DIAMOND, 1991). Selon REMBOLD et FLÜCHTER (1988), un autre facteur extrinsèque serait un "facteur de métamorphose" contenu seulement dans la nourriture vivante. Cela est à relier avec la découverte de l'activation de certains zymogènes par des enzymes d'invertébrés.

Les facteurs centraux (C) auraient la nature d'hormones hypophysaires, thyroïdiennes ou surrénales. Enfin, les facteurs locaux pourraient être des enzymes pancréatiques exprimés durant la métamorphose et dont l'affinité spécifique pour un substrat changerait pendant l'ontogenèse. Cette observation fut effectuée en fait chez les corégonidés, avec des isoenzymes de la trypsine (LAUFF et HOFER, 1984).

2.2. VULNERABILITE DES LARVES FACE AU JEUNE

Chez les larves, le taux de synthèse des protéines élevé est à relier avec la proportion pondérale relative de chaque tissu dans la larve (Fig. 2.14). Ainsi, chez les jeunes larves dont la proportion pondérale relative de l'intestin est élevée, le turn-over protéique est plus rapide dans les tissus actifs du tube digestif et demande une plus forte synthèse protéique. Plus tard, quand ce sont les muscles qui sont les tissus les plus abondants, en nombre et en masse, dans la larve, le turn-over est beaucoup plus lent et la synthèse des protéines peut diminuer (DABROWSKI, 1986)

Les jeunes larves, ayant un faible poids initial, une croissance rapide et un besoin protéique assez élevé, sont plus sensibles au jeûne et donc vulnérables,

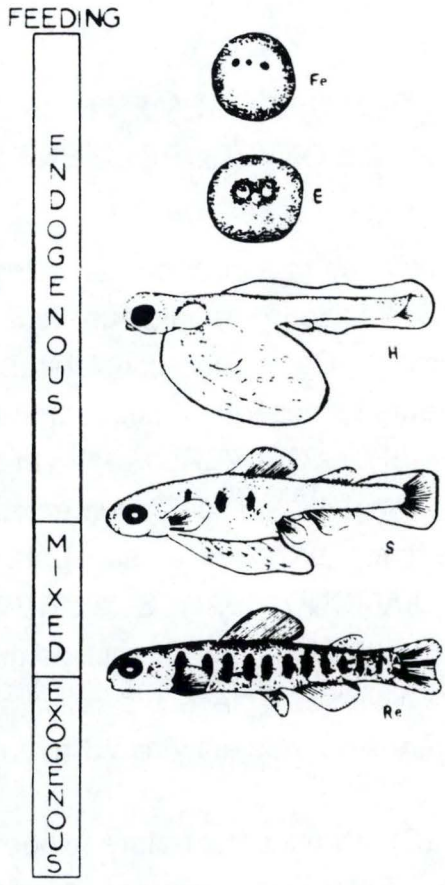


Figure 2.15 : Représentation schématique du développement larvaire précoce d'un salmonidé (modifié d'après RACIBORSKI, 1987).
Fe: fertilisation
E: stade oeillé
H: éclosion
S: nage libre
Re: achèvement de la résorption de la vésicule vitelline

car toute déficience nutritionnelle leur est fatale. Cela est encore plus vrai chez les perches et les sandres dont le spectre alimentaire est assez étroit au début de la vie (GOUBIER et MARCHANDISE, 1989).

2.3. EVOLUTION DU REGIME ALIMENTAIRE DES LARVES ET SES CONSEQUENCES

On peut diviser le début de la vie d'un poisson en trois périodes de croissance qui correspondent à trois modes de nutrition schématisés à la Fig. 2.15 (RACIBORSKI, 1987). Pendant ces périodes, l'ontogenèse s'accomplit en passant par une série d'états stables consécutifs durant lesquels diverses structures se différencient, selon la théorie saltatoire de BALON (1986).

Mais décrivons à présent ces périodes en termes de croissance. Les embryons grandissent lentement jusqu'à l'éclosion. Ensuite, les larves croissent rapidement car leurs réserves vitellines les entretiennent jusqu'à l'ouverture de leur bouche; c'est la phase d'alimentation endogène. Suit la phase d'alimentation mixte qui dure jusqu'à la fin de la résorption de la vésicule vitelline. Pendant celle-ci, les larves commencent à capturer des petites proies et celles qui se sont bien nourries croissent lentement tandis que les autres montrent un déficit énergétique et une régression des tissus. Dans ce dernier cas, elles montrent une croissance négative et peuvent même voir leur longueur diminuer (ELDRIDGE, 1987).

2.4. LES PERIODES CRITIQUES ET LE POINT DE NON-RETOUR

Il existe des périodes critiques dans la vie d'un jeune poisson. Celles-ci sont caractérisées par une grande vulnérabilité aux facteurs externes et par une mortalité intensifiée. Ce sont, par exemple, celle du clivage de l'œuf, celle de la gastrulation débutante, celle du début de l'organogenèse, celle du passage à l'alimentation exogène et celle de la métamorphose. Dans la nature, la mortalité des embryons et des larves est d'abord déterminée par des facteurs endogènes et secondairement par des facteurs exogènes, biotiques et abiotiques. Cependant, dans les élevages intensifs, les facteurs externes sont réduits artificiellement, car on travaille en conditions contrôlées (DABROWSKI, 1985).

Néanmoins, le manque de nourriture pendant la période d'alimentation mixte a été reconnu comme le facteur prépondérant de la mortalité larvaire

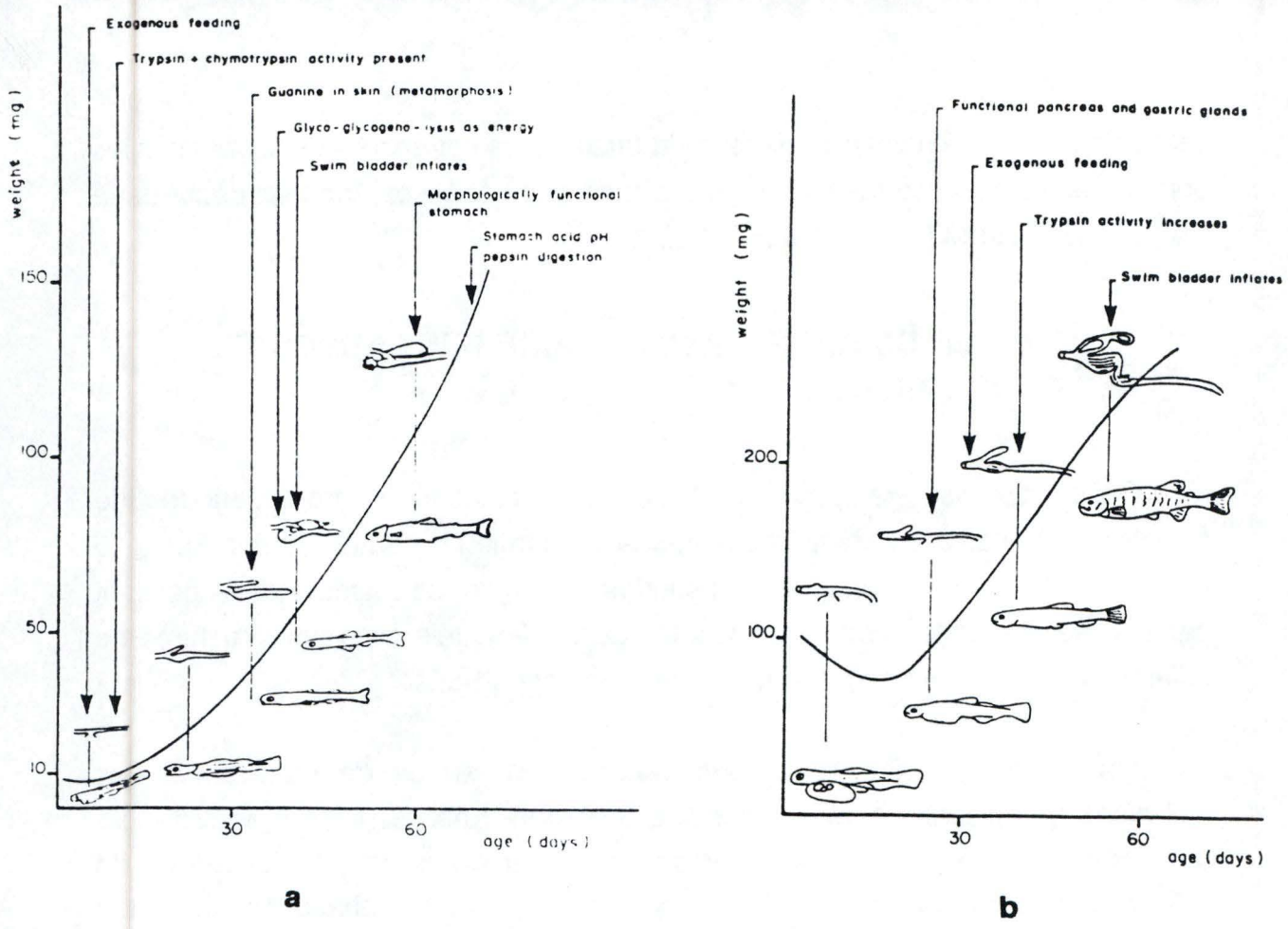


Figure 2.16: Développement ontogénique du tractus digestif des (**a**) salmonidés (ex.: truite arc-en-ciel) et des (**b**) corégonidés (ex.: *Coregonus pollan*). Modifié selon DABROWSKI (1982).

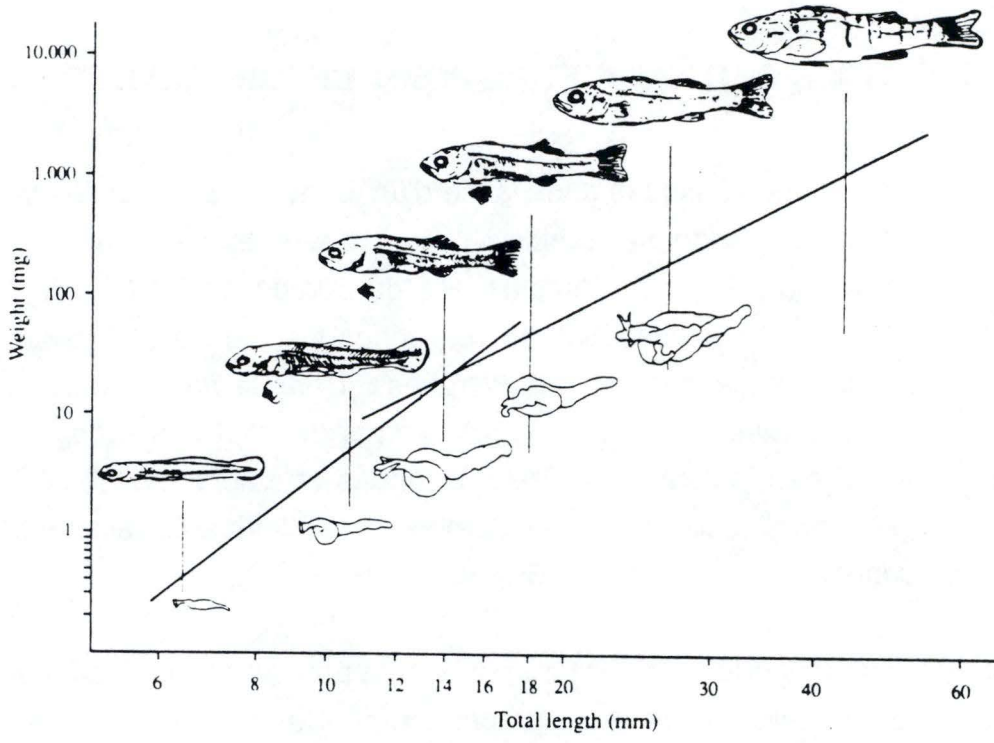


Figure 2.17: Croissance allométrique poids-longueur de la perchaude avec des schémas du poisson et de son tube digestif à différents stades caractéristiques (n=52). Selon DABROWSKI (1991).

(RACIBORSKI, 1987). C'est alors que la qualité de la classe d'âge des larves est établie. Aussi, chez le bar rayé (*Morone saxatilis*), une alimentation initiale postposée peut retarder et même arrêter le développement (HUNG et alii, 1992).

On en vient à la notion de point de non-retour (PNR) qui est le moment auquel les larves mal alimentées perdent leurs capacités à s'alimenter, deviennent moins actives, montrent une forte perte d'azote et une importante utilisation d'oxygène. Il s'y produirait un processus de catabolisme irréversible (DABROWSKI et alii, 1984). L'existence de ce PNR dépend des espèces. Par exemple, chez le bar rayé, le PNR ne fut pas observé même si 40 à 60 % des larves étaient mortes quand une expérience de jeûne fut arrêtée, les survivantes se remettant à grandir normalement (ELDRIDGE et alii, 1981).

3. DEVELOPPENENT ANATOMIQUE ET FONCTIONNEL DU TRACTUS DIGESTIF DES LARVES DE PERCHES

3.1. COMPARAISON MORPHOLOGIQUE AVEC LE TUBE DIGESTIF D'AUTRES LARVES DE TELEOSTEENS

En ce qui concerne l'ontogenèse du tube digestif, les différences entre espèces de poissons peuvent, dans une certaine mesure, expliquer les contraintes nutritionnelles lors du développement larvaire ainsi que l'acceptation et l'assimilation d'aliments composés secs. Ainsi, DABROWSKI (1991) divise les poissons, d'un point de vue pratique, en trois groupes, selon la morphologie de leur tube digestif et l'apparition de la sécrétion de certains enzymes digestifs (Fig. 2.16). Un premier groupe comprend les poissons ayant un estomac fonctionnel même avant la première prise de nourriture exogène; c'est le cas des salmonidés et des cichlidés dont les larves s'adaptent très tôt et facilement à un aliment artificiel. Le second groupe auquel appartiennent de nombreux poissons comme les corégonidés et les percidés, est celui des poissons dont les larves n'ont pas d'estomac mais d'autres organes digestifs qui se différencient en estomac et en intestin pendant une "métamorphose" complexe. Le dernier groupe est celui des poissons agastres toute leur vie, comme les cyprinidés. Il est possible que les similitudes morphologiques entre le tractus digestif des larves de poissons avec et sans estomac correspondent à des ressemblances qui existent dans les processus de la digestion et de l'absorption des aliments.

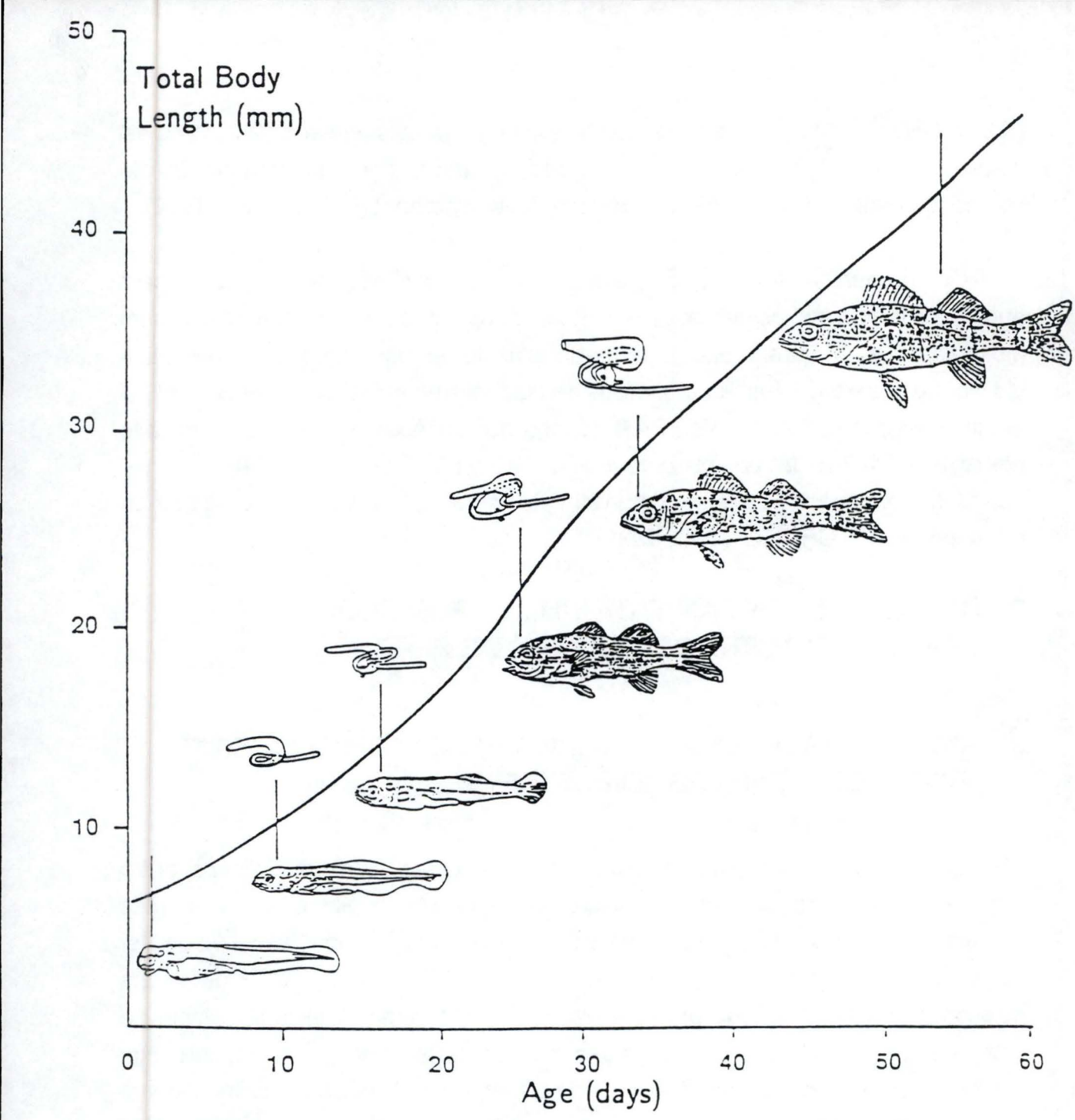


Figure 2.18: Développement du corps et du tractus digestif de la perchaude (DABROWSKI, 1991).

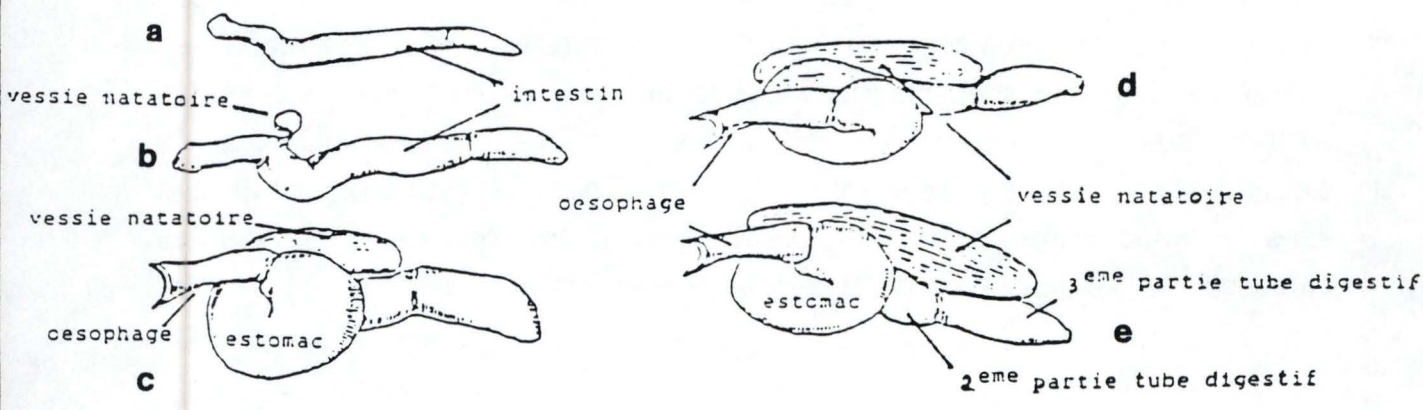


Figure 2.19: Développement et différentiation du tube digestif de la perche au cours des stades larvaires, selon CONSTANTINOV (1957). a: stade I; b: stade III; c: stade V; d: stade VII; e: stade VIII (cfr. Figure 2.9).

3.2. ONTOGENESE DU TRACTUS DIGESTIF CHEZ LA PERCHE

La période larvaire commence avec le début de la prise d'aliments exogènes qui vont progressivement remplacer la source d'énergie que constitue le vitellus avant et juste après l'éclosion. Le vitellus peut encore nourrir la larve assez tard, sous forme de "goutte d'huile" si elle est privée de nourriture (CHEVEY, 1925, cité par GOUBIER et MARCHANDISE, 1989). Le canal alimentaire des larves se présente à de nombreux niveaux moins élaboré que celui des adultes et cela peut expliquer les différences entre leurs régimes alimentaires (VERRETH, 1991).

Le premier élément du tractus digestif à se former est la bouche; elle est visible à travers la membrane de l'oeuf mais est encore incapable de s'ouvrir à 61 degrés-jours après la fécondation, chez la perche (*Perca fluviatilis*). Elle semble ouverte et fonctionnelle à 79 degrés-jour mais n'ingérera rien à ce stade prénatal, car il y a encore du vitellus. A ce moment, le tube digestif s'est déjà développé le long de la vésicule vitelline et il est constitué d'un épithélium primatique simple (GOUBIER et MARCHANDISE, 1989). Son développement qui se déroule entre 61 et 79 degrés-jours est illustré en fonction de la longueur, de l'âge ou du stade de développement de la perche, respectivement aux Fig. 2.17, 2.18 et 2.19. Il est fonctionnel dès l'éclosion, ce qui est prouvé par la présence de phosphatases basiques sur le plateau strié des entérocytes; elles sont en effet le reflet d'un métabolisme intense. La perche est donc capable d'alimentation exogène dès l'éclosion bien qu'elle possède encore du vitellus. Elle ne se nourrira vraiment de cette manière qu'après 2,3 jours suivant l'éclosion, à 8,5-12°C, vers 7 mm (MANSUETI, 1964). Le tube digestif est complètement formé au stade protoptérygiolarvaire et se présente comme suit:

L'œsophage :

Il est assez court chez la perche comme l'indique la Fig. 2.20 et connecte le pharynx à l'estomac. Il a un rôle d'osmorégulation et sert de détecteur de goût (car il possède des bourgeons gustatifs dans sa partie antérieure).

L'estomac :

Il est distinguable à un poids de 10 mg chez la perche et sa structure morphologique se développe jusqu'à 20 mg. En fait, ce n'est que lorsque la masse du corps de la larve augmente d'un ordre de grandeur (de 0,4 à 40 mg) qu'il est complètement formé et qu'il possède deux compartiments (DABROWSKI, 1992). Le pylore le relie à l'intestin en position dorsale. La digestion protéique acide ne

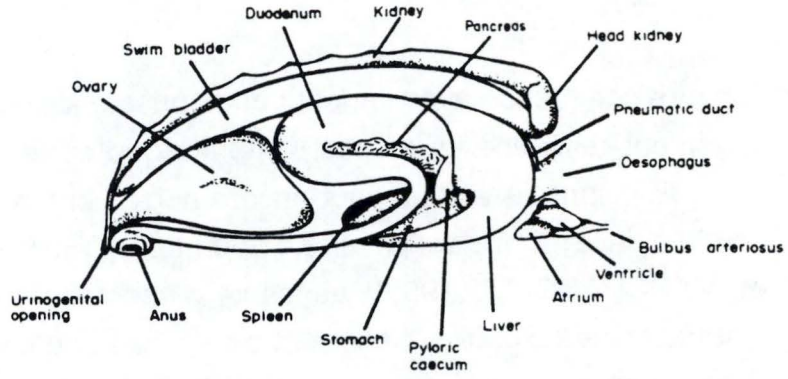
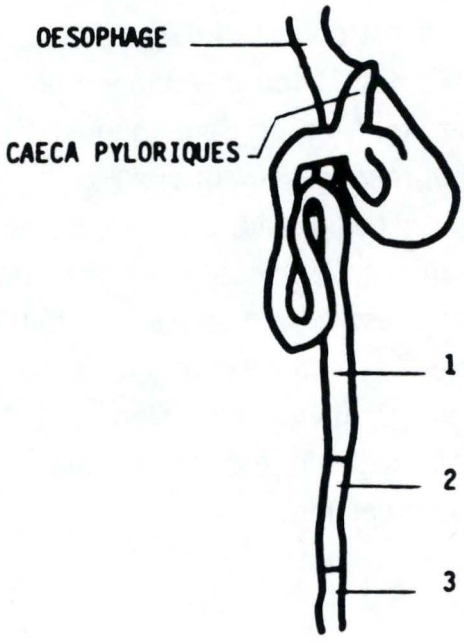


Figure 2.20: Vue latérale de la cavité corporelle de la perchaude montrant ses viscères (CRAIG, 1987).



PERCA FLUVIATILIS

1 : INT. ANTERIEUR (LIPIDES)

2 : INT. MOYEN (MACROMOLECULES)

3 : INT. POSTERIEUR

Figure 2.21: Schéma montrant les subdivisions du tractus digestif d'une perche (*Perca fluviatilis*). Modifié d'après BERGOT (1979).

pourra s'y dérouler que lorsque les cellules gastriques sécrèteront de l'HCl, de concert avec de la pepsine, peu avant l'apparition du pylore. Ainsi, avant le début de cette sécrétion, l'estomac a seulement un rôle de stockage et de mélange des aliments. En réalité, ce n'est que vers 10-20 mg que la jeune perche digère efficacement des aliments.

Les caeca pyloriques :

Il y en a trois chez la perche et ils sont situés à la fin de l'intestin antérieur (CRAIG, 1987). Leur rôle ne serait pas de sécréter des enzymes mais de stocker des aliments et d'allonger le temps de transit intestinal (FÄNGE et GROVE, 1979). Pourtant, ils peuvent contenir beaucoup d'enzymes digestifs en servant de réservoir d'enzymes et peuvent absorber des lipides (PERES, 1979). Leur nombre est fixé précocement et serait lié indirectement au régime alimentaire. Ils apparaissent quand la relation poids-longueur passe d'une croissance de type allométrique à une de type isométrique, c-à-d. vers 20-30 mg (DABROWSKI, 1992).

L'intestin :

Après la première prise d'aliments, les replis de sa muqueuse se développent et une différenciation longitudinale apparaît. Vers son extrémité postérieure, un sphincter se forme et le rectum est créé. L'intestin est alors divisé en trois parties (Figure 2.21.): l'antérieure (I.A.), où se déroule l'absorption des lipides et un peu des protéines; la moyenne où l'on peut observer la pincytose de protéines (digestion intracellulaire) et la postérieure (I.P.) où de l'eau et des sels minéraux seraient absorbés (VERRETH, 1991). Au moment où la "goutte d'huile" disparaît, l'intestin forme ses premières boucles (CRAIG, 1987). Vers 100 mg, il est comparable à celui de l'adulte et sa longueur relative (= $\frac{\text{longueur de l'intestin}}{\text{longueur du corps}}$) a tendance à augmenter avec l'âge du poisson (DABROWSKI, 1992), bien que cela soit moins marqué chez la perche qui, comme la truite arc-en-ciel, est carnivore (Figure 2.22). Ainsi, la perche a un court intestin et le conduit le reliant à la vessie natatoire est fermé (cfr. poisson physocliste).

Les glandes digestives :

Chez la larve, un foie et un pancréas fonctionnels existent dès l'éclosion mais ne deviennent fonctionnels qu'à la fin de la résorption de la vésicule. Vers la fin de la période larvaire, ils fusionnent en un hépato-pancréas (juxtaposition de deux tissus différents). Quant à la vésicule biliaire, elle se forme un peu plus tard.

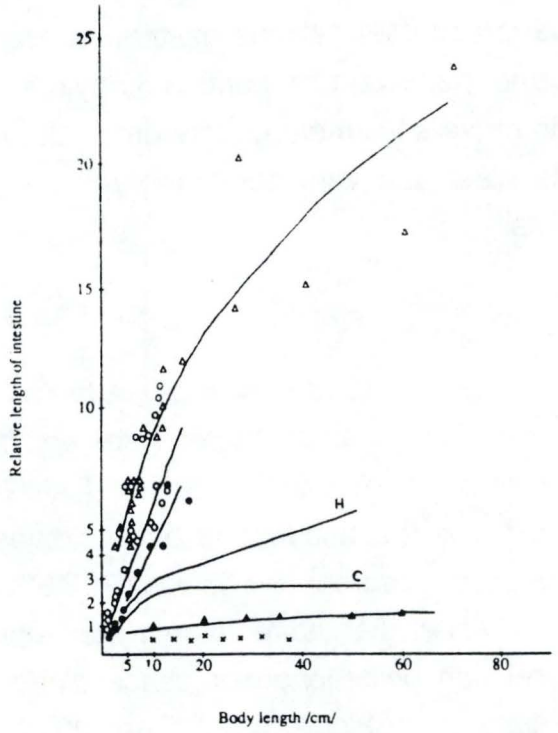
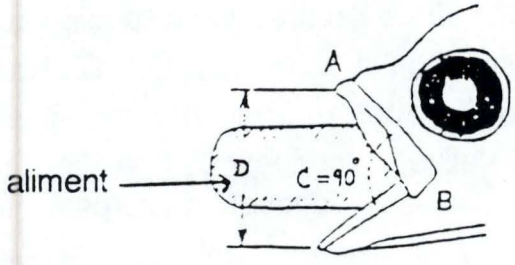


Figure 2.22: Longueur relative de l'intestin de différents poissons durant leur vie (KAFUKU, 1975).
x: poisson-chat européen / **▲**: truite arc-en-ciel / **C**: carpe commune
H: carpe argentée / Δ , O , ●: trois espèces de carpes indiennes principales.



D : taille de la bouche

$D = \sqrt{2} \cdot \overline{AB}$

Figure 2.23: Mesure de la taille de la bouche (GOUBIER, 1989).

4. INGESTION, DIGESTION ET ABSORPTION DES ALIMENTS PAR LES LARVES DE TELEOSTEENS

La nutrition des larves, et plus particulièrement le début de leur nourrissage, paraît être un des problèmes majeurs de la pisciculture intensive, surtout à l'échelle industrielle. Pour certaines larves dont la vésicule vitelline est grosse, comme celles des salmonidés, l'acceptation de l'aliment artificiel est facile, car, à la fin de la résorption de la vésicule, soit trois semaines après l'éclosion, les larves qui commencent à se nourrir de façon active ont un tractus digestif sufisamment développé et la taille de la bouche assez grande pour pouvoir se passer d'aliment naturel. Cependant, la plupart des autres larves de poissons ont, au moment du premier nourrissage, soit un à quatre jours après l'éclosion, une petite ouverture de la bouche et un système digestif incomplet (souvent sans estomac).

4.1. FACTEURS INFLUENCANT LE COMPORTEMENT DE LA LARVE FACE A L'ALIMENT

4.1.1. LA TAILLE DE L'ALIMENT

C'est un des facteurs limitants les plus importants pour ce qui est de l'ingestion d'un aliment par une larve (ex. : moins de 0,4 mm, comme diamètre de l'aliment, pour la larve de doré jaune). Ainsi, la taille de la bouche de l'éleuthéroembryon détermine la taille maximale de l'aliment qu'il pourra ingérer. Pour mesurer la taille de la bouche, la méthode de SHIROTA (1970) est utilisée. Elle nécessite la mesure de la distance AB du schéma de la Fig. 2.23 et utilise la formule :

Largeur de la bouche ouverte à 90° (D) $=\sqrt{2}$ X AB (GOUBIER et MARCHANDISE, 1989)

Chez la perche, à 45 degrés-jours après la fécondation, la bouche est formée mais sa taille n'est pas encore estimable. A 61 degrés-jours, l'embryon possède une bouche apparemment non ouverte dont l'ouverture (D) serait évaluée à 152 µm. De ce fait, il est raisonnable de penser qu'au moment de l'éclosion, la larve de *perche* possède une bouche de taille comprise entre 150 et 250 µm. La larve est donc apte à se nourrir avant la fin de la résorption de sa vésicule (GOUBIER et

MARCHANDISE, 1989). D'ailleurs, sa bouche devient réellement fonctionnelle quand la résorption de la vésicule commence, vers 6,8 mm chez la perchaude, bien qu'aucune ingestion ne soit observée à ce stade (MANSUETI, 1964).

4.1.2. LA STABILITE DE L'ALIMENT DANS L'EAU

L'aliment, qu'il soit naturel ou artificiel, doit, pour être ingéré par la larve et lui assurer une bonne croissance, être à la fois stable dans sa composition chimique et présent à l'endroit où elle se nourrit. Ces deux conditions sont toujours réalisées pour l'aliment naturel mais ce n'est pas le cas des aliments artificiels qui, eux, ont tendance à couler vers le fond rapidement à cause de leur haute densité. Cela diminue les chances que la larve a de repérer l'aliment artificiel, car, à ce stade, elle ne peut compter que sur sa vision, sa ligne latérale ne se formant qu'à la fin de la période larvaire. De plus, la chute rapide de l'aliment artificiel induit une faible réaction agressive de la part de la larve. Cependant, cette chute peut être empêchée en donnant la forme d'un ver à la particule alimentaire.

D'autre part, le lessivage des particules dans l'eau peut provoquer une perte de nutriments pour la larve et d'argent pour le pisciculteur. En effet, il peut engendrer, via la décomposition bactérienne, la détérioration de la qualité de l'eau et, plus gravement, la perte de caractéristiques nutritionnelles de l'aliment (par exemple perte de vitamines hydrosolubles, de minéraux, d'acides aminés,...). Ce problème peut être évité par la microencapsulation des aliments (c'est-à-dire leur enrobage par une substance plus stable et digestible).

Même si l'aliment artificiel est ingéré après un certain temps, il peut créer, lorsqu'il est encore dans l'eau, à la surface, un film huileux s'il perd ses composants lipidiques. C'est un problème important car il peut entraver le gonflement de la vessie natatoire de la larve, notamment chez les dorés jaunes (BARROWS et alii, 1988). En réalité, la larve a besoin très tôt de gonfler sa vessie et elle le fait en venant happer de l'air à la surface de l'eau. Or, un film huileux peut l'empêcher d'arriver à la surface.

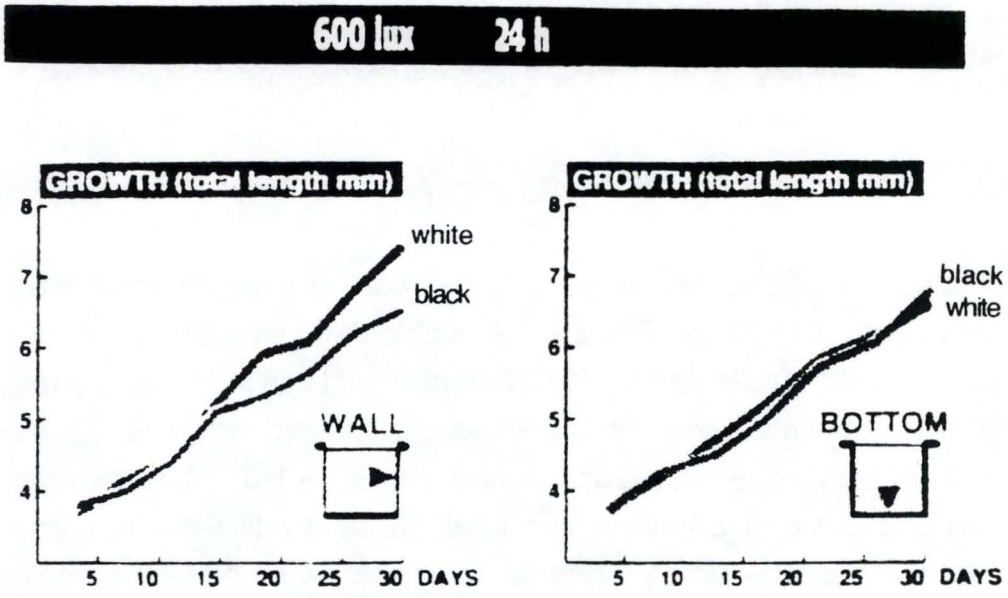


Figure 2.24: Effet contraire de la couleur des parois latérales des bassins sur la croissance et la mortalité de larves de *Sparus aurata*. Mortalité due à un échec partiel de la nutrition exogène (problème de contraste proie-milieu). Modifié selon CHATAIN et OUNAIS-GUSCHEMANN (1991).

4.1.3. LA TEXTURE ET LA STRUCTURE DES PARTICULES ALIMENTAIRES

Ces deux caractéristiques sont en partie liées au point précédent. Ainsi, la texture de l'aliment conditionne son absorption d'eau et donc sa densité et son lessivage potentiel. De la même manière, la structure et la forme des particules, en déterminant la surface de contact avec l'eau, conditionnent leur lessivage. De ce fait, plus les particules sont petites (comme le sont beaucoup de particules, c'est-à-dire d'un diamètre de 0,05 à 0,7 mm) et irrégulières ou peu compactes, plus leur lessivage sera prononcé, mais aussi, plus elles seront digestibles. Le lessivage pouvant provoquer des pertes importantes (50 % du poids sec perdu après 10 secondes), il y a un compromis au niveau de la taille des particules (JEZIERSKA, 1974); elles doivent être suffisamment petites pour ne pas dépasser la taille de la bouche des larves et assez grandes afin de ne pas se décomposer trop vite.

4.1.4. LA COULEUR ET L'ODEUR DES ALIMENTS

L'aliment naturel est souvent peu coloré mais se déplace irrégulièrement, ce qui attire l'attention de la larve. Au contraire, l'aliment artificiel est peu mobile (il coule seulement) mais peut être coloré. On peut donc augmenter son acceptabilité en le colorant ou en utilisant pour les parois du bac d'élevage une couleur faisant contraste avec celle des particules (Fig. 2.24). On peut également veiller à ne pas avoir une intensité lumineuse trop forte, de façon à ne pas "éblouir" les larves qui ont parfois un phototactisme négatif et qui seraient gênées dans la détection de l'aliment.

En ce qui concerne le goût des aliments détecté par des larves grâce à des bourgeons gustatifs dans la bouche et à l'entrée de l'œsophage, on peut l'améliorer en ajoutant des attractants (comme certains acides aminés ou de l'huile de poisson) mais cela n'est pas toujours efficace et dépend fortement de l'espèce.

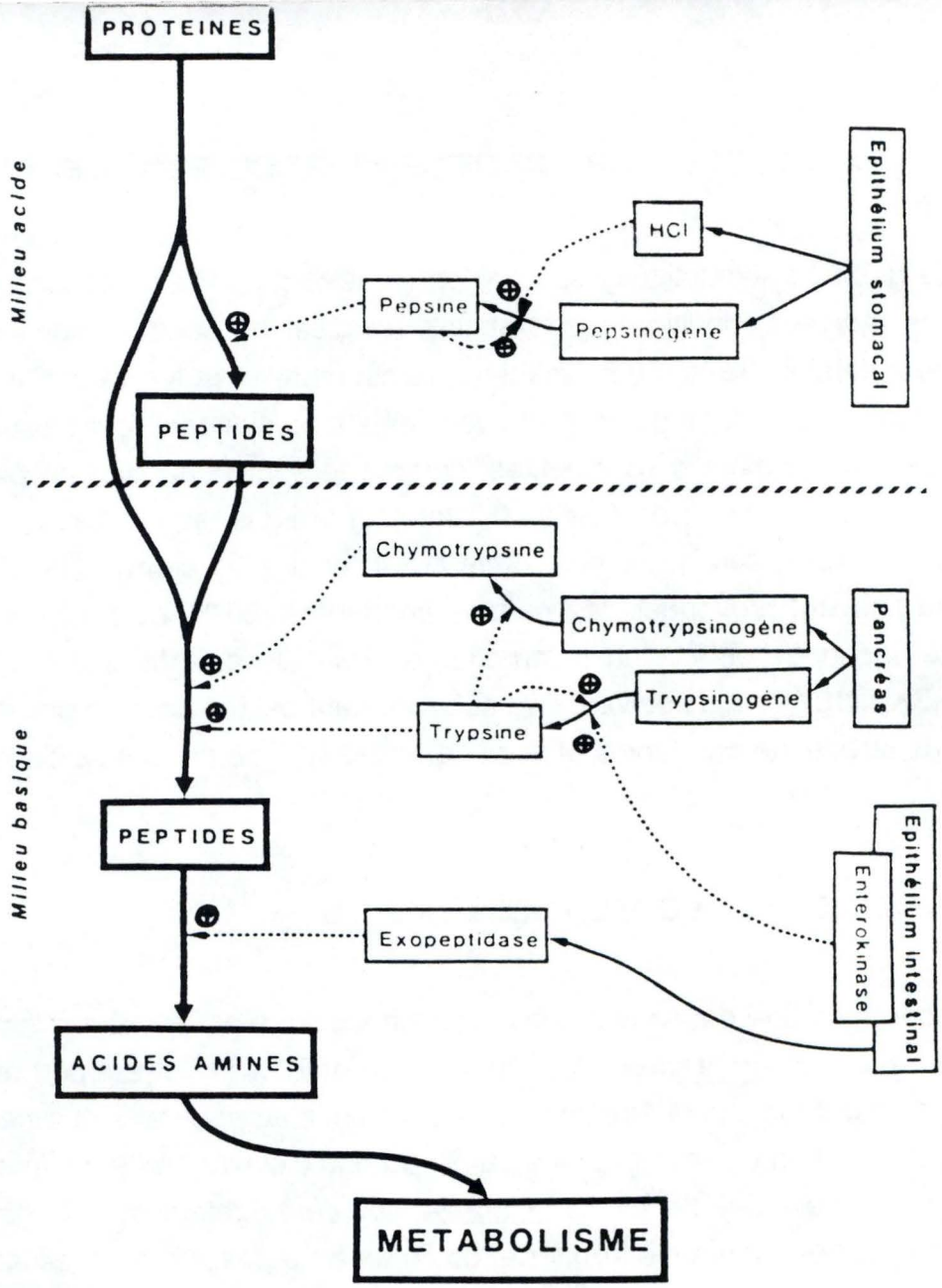


Figure 2.25: Schéma des mécanismes de digestion des protéines (MOREAU, 1988).
Note: fin trait plein = secrète ou produit OU est activé en.
fin trait pointillé = entraine la transformation.
gros trait plein = est dégradé en OU peut servir dans.
⊕ = active positivement.

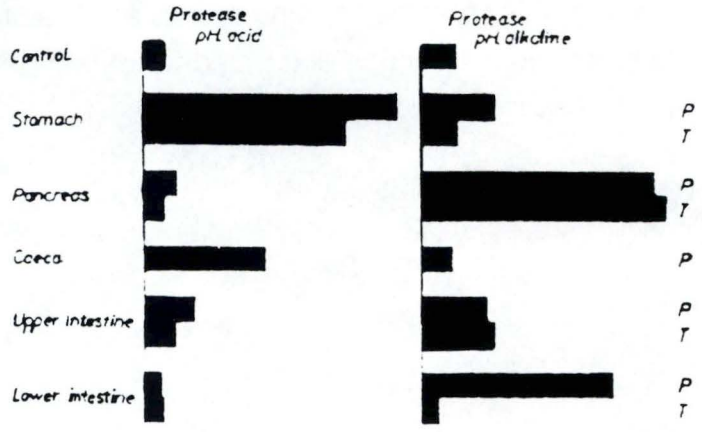


Figure 2.26: Comparaison de l'activité des protéases extraites de l'intestin du tilapia (T) et de la perche (P). Selon FISH (1960).

4.2. LA DIGESTION ET LES ENZYMES PROTEOLYTIQUES

4.2.1. DESCRIPTION DES ENZYMES PROTEOLYTIQUES ET DE LEUR LOCALISATION

Il existe deux types d'enzymes participant à la digestion des protéines: les endopeptidases (pepsine, trypsine et chymotrypsine) et les exopeptidases (carboxypeptidase, aminopeptidase et dipeptidase). Les premières hydrolysent les liaisons peptiques à l'intérieur des protéines pour les scinder en chaînes protéiques plus petites : les peptides. Ceux-ci sont eux-mêmes dégradés par les exopeptidases et finalement , il ne reste que des dipeptides et des acides aminés qui peuvent pénétrer dans l'épithélium intestinal seulement à ce stade. Néanmoins, chez les larves, certains entérocytes sont capables d'absorber des peptides par pinocytose (HOFER et SCHIEMER, 1981).

4.2.1.1. La pepsine

Cet enzyme est sécrété par les glandes gastriques sous forme de pepsinogène inactif. Ce zymogène est activé grâce à la sécrétion d'acide (HCl) par l'estomac, ou par la pepsine elle-même (Fig. 2.25, MOREAU, 1988). La pepsine peut alors cliver les protéines au niveau des liens formés par les acides aminés aromatiques ou acides. Elle est active à un pH inférieur à 2,5 et son pH optimum est de 2. Son affinité pour un substrat artificiel est plus grande que celle de la pepsine mammalienne. Les protéines qu'elle hydrolyse pourront mieux être attaquées par la suite par les protéases basiques intestinales. Ce qui aura pour effet d'accélérer l'hydrolyse globale.

L'activation de la pepsine est liée plutôt à la sécrétion d'acide par l'estomac qu'à la présence de pepsine activatrice dans l'estomac. Ainsi chez les corégonidés, la digestion pepsique est assez tardive, car la sécrétion d'HCl ne se fait que 100 jours après l'éclosion, bien que leur estomac soit morphologiquement présent bien avant (DABROWSKI, 1982; MÄHR et alii, 1983).

Chez la perche, on a décelé une activité pepsique élevée dans l'estomac et plus faible dans les caeca et dans l'intestin antérieur. Ces deux dernières activités seraient dues à l'absorption de pepsine sur les parois de ces organes, bien que cette dernière soit contrecarrée par le flot de mucus gastrique (FISH, 1960).

4.2.1.2. La trypsine

Il en existe quatre isoenzymes qui sont actives en milieu alcalin et dont le pH optimal est entre 7 et 8. Elle est sécrétée sous forme de trypsinogène par la partie exocrine du pancréas. Ce zymogène dont il existe une forme cationique et une forme anionique est activé en trypsine par autocatalyse (favorisée par le $CaCl_2$ et inhibée par l'urée) ou par l'entérokinase produite par la muqueuse intestinale (Fig. 2.25).

Chez *Perca fluviatilis,* l'activité des protéases basiques est élevée dans le pancréas, dans l'intestin postérieur et elle est même observée dans l'estomac (Fig. 2.26, FISH, 1960). Cela peut s'expliquer par l'absorption d'enzymes sur les parois dans le cas de l'estomac. Une activité trypsique a aussi été observée dans des extraits de muqueuse intestinale (HYKES, 1933, cité par HOFER, 1991). On a remarqué que l'activité de la trypsine de perche, avec un substrat synthétique (Na Benzoyl DL Arginine P Nitroanilide), était plus forte que celle des cyprinidés (HOFER, 1991). La trypsine clive les liens peptidiques aux groupes carboxyles de la L-arginine et de la L-lysine. Elle active tous les zymogènes du tissu pancréatique (GEIGER, 1983) et est elle-même inactivée par l'α_2 macroglobuline, ce qui, entre autres, empêche son activation dans le pancréas.

4.2.1.3. La chymotrypsine

Cette endopeptidase dont il existe 2 isoenzymes coupe les liens peptidiques formés par les acides aminés hydrophobes (ex.: Phe, Tyr, Tryp, Leu, Glu). Cet enzyme est stocké dans le pancréas, dans des granules sous forme de chymotrypsinogène inactif dont il existe 3 types qui diffèrent notamment par leur point isoélectrique (GEIGER, 1985). Ce zymogène est activé par la trypsine (Fig. 2.25) et il en existe des inhibiteurs comme l'α_2 macroglobuline. Les endroits où la chymotrypsine est sécrétée sont identiques à ceux de la trypsine et, chez les carnivores, son activité est plus élevée face à la trypsine.

4.2.1.4. Les autres protéases

Parmi elles, il existe l'aminopeptidase qui est une exopeptidase présente dans le foie et les reins. Se rencontrent également la carboxypeptidase et la dipeptidase qui ont un pH optimal entre 7 et 8. Ces dernières sont aussi importantes dans la digestion des protéines mais sont peu étudiées.

4.2.2. FACTEURS INFLUENCANT LES ACTIVITES PROTEOLYTIQUES

La capacité d'un organisme à digérer une nourriture particulière dépend de la présence et de la quantité d'enzymes digestifs appropriés (SMITH, 1980). La recherche d'aliments de premier nourrissage s'est souvent déroulée en ignorant l'implication des changements ontogéniques dans les besoins en nutriments des larves, contrairement à ce qui s'est fait avec les mammifères (DABROWSKI, 1984) Il est actuellement intéressant de penser que le régime alimentaire des larves est plutôt lié à un séquence ontogénique dans les enzymes digestifs. Cela implique la connaissance des facteurs pouvant influencer la sécrétion et l'activité des enzymes protéolytiques permettant la digestion des aliments. Cette dernière dépend de trois facteurs principaux :

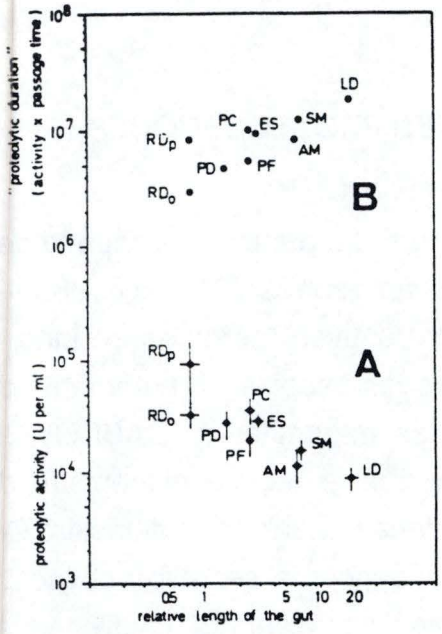
- la quantité des enzymes digestifs et leur activité;
- la quantité de nourriture ingérée et la manière dont elle est susceptible d'influencer les enzymes digestifs;
- le temps de transit intestinal qui détermine le temps pendant lequel la nourriture est exposée aux enzymes digestifs.

Les facteurs généraux influençant l'activité des enzymes sont la nature du substrat, la température, le pH et la présence ou non d'inhibiteurs. D'autres facteurs plus précis sont:

4.2.2.1. L'espèce et le stade de développement du poisson

a - l'espèce

Chez les poissons carnivores, l'estomac a un rôle important de stockage, car les proies sont de grande taille, à l'âge adulte. Chez eux, les enzymes protéolytiques sont souvent plus abondants que les enzymes amylolytiques (MOREAU, 1988). Pourtant, FISH (1960) a comparé l'activité des protéases d'*Oreochromis mossambicus* (herbivore) et de *Perca fluviatilis* (carnivore facultatif) et n'a détecté aucune différence sensible à part une activité trypsique plus élevée dans l'intestin postérieur de la perche (Fig. 2.26). Chez les poissons avec ou sans estomac, les activités des enzymes pancréatiques sont semblables (COHEN, 1981). Cependant, on a remarqué que l'affinité de la trypsine pour un substrat



PD: *Puntius dorsalis* (carnivore)
PC: *Puntius chola* (carnivore)
RDp: *Rasbora daniconius* (spécimens carnivores)
RDo: *Rasbora daniconius* (spécimens omnivores)
PF: *Puntius filamentosus* (omnivore)
ES: *Etroplus suratensis* (omnivore)
SM: *Sarotherodon mossambicus* (herbivore)
AM: *Amblypharyngodon* (herbivore)
LD: *Labeo dussumieri* (herbivore)

Figure 2.27: Corrélation entre la longueur relative de l'intestin et l'activité protéolytique du contenu intestinal (HOFER et SCHIEMER, 1981).
A: Activité en unités par ml.; moyenne et écart-type sont donnés.
B: Activité (en unités par ml.) multipliée par le temps de passage en minutes.

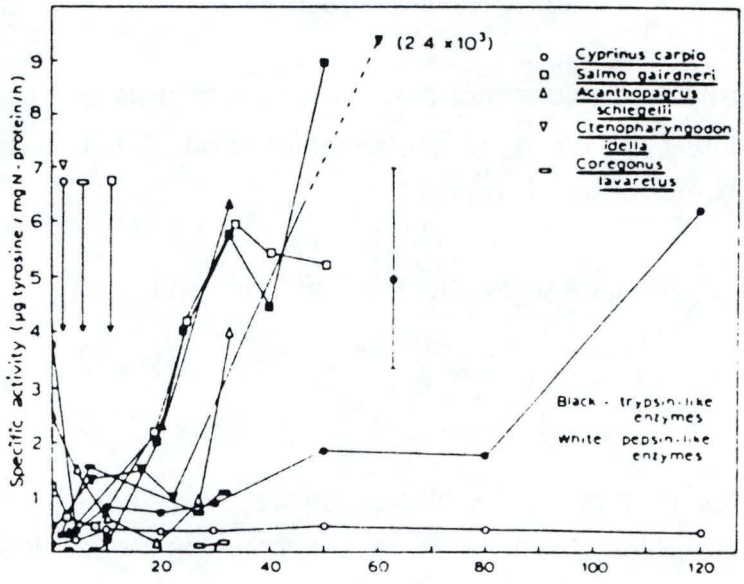


Figure 2.28: Activité spécifique d'enzymes de type trypsine et de type pepsine en fonction de l'âge du poisson (DABROWSKI et GLOGOWSKI, 1977 b).

artificiel est plus forte chez les cyprinidés que chez la truite, ce qui serait un mécanisme compensatoire du manque de digestion par la pepsine chez les non carnivores (HOFER, 1991).

La pepsine des poissons est plus active (150 fois plus selon ANANICHEV, 1959) que celle des mammifères. Quant à la trypsine et la chymotrypsine des poissons, elles sont plus sensibles à l'inactivation par les semences de soja par rapport à celles des mammifères, bien que leurs compositions soient proches; les enzymes pancréatiques des mammifères étant un peu moins riches en résidus acides (HOFER, 1982). Selon COHEN (1981), l'activité de la chymotrypsine de la carpe commune (*Cyprinus carpio*) est plus forte que son homologue bovine. ANANICHEV (1959) trouva que l'activité de la trypsine de poisson était 14 fois plus élevée que celle des mammifères. Au contraire, DABROWSKI (1984) affirme que l'activité des enzymes digestifs des poissons est plus forte.

COHEN (1981) observa que l'activité relative de la trypsine et de la chymotrypsine dépendait de l'espèce. En effet, chez les carpes argentée (*Hypophthalmichthys molitrix*) et commune, c'est la chymotrypsine qui est la plus active et, chez la silure glane (*Silurus glanis*), la trypsine est quatre fois plus active que la chymotrypsine. En fait, les différences d'activité protéolytique intestinale sont souvent dues à des caractéristiques morphologiques et physiologiques des diverses espèces (CAKE, 1991).

Une étude sur *Clarias gariepinus* montra que l'hydrolyse acide pepsique avait chez ce poisson peu d'importance et que le rôle de protéolyse était repris par la trypsine et la chymotrypsine (VAN DAMME et alii , 1989).

La longueur relative de l'intestin qui dépend de l'espèce et de l'âge des poissons est corrélée positivement avec la "durée de protéolyse" (= activité protéolytique X temps de transit intestinal) et négativement avec l'activité protéolytique (Fig. 2.27). Cette dernière décroît généralement vers l'extrémité anale de l'intestin, ce qui est dû à la réabsorption d'enzymes optimum à une longueur de l'intestin valant 2,5 à 3 fois la longueur du corps (HOFER et SCHIEMER, 1981).

DABROWSKI et GLOGOWSKI (1977 b), a rassemblé les activités pepsique et trypsique de quelques poissons sur la Fig. 2.28. On y voit que les carnivores, possédant un estomac, ont des activités protéolytiques qui augmentent plus rapidement par rapport aux herbivores. Mais les poissons herbivores et omnivores

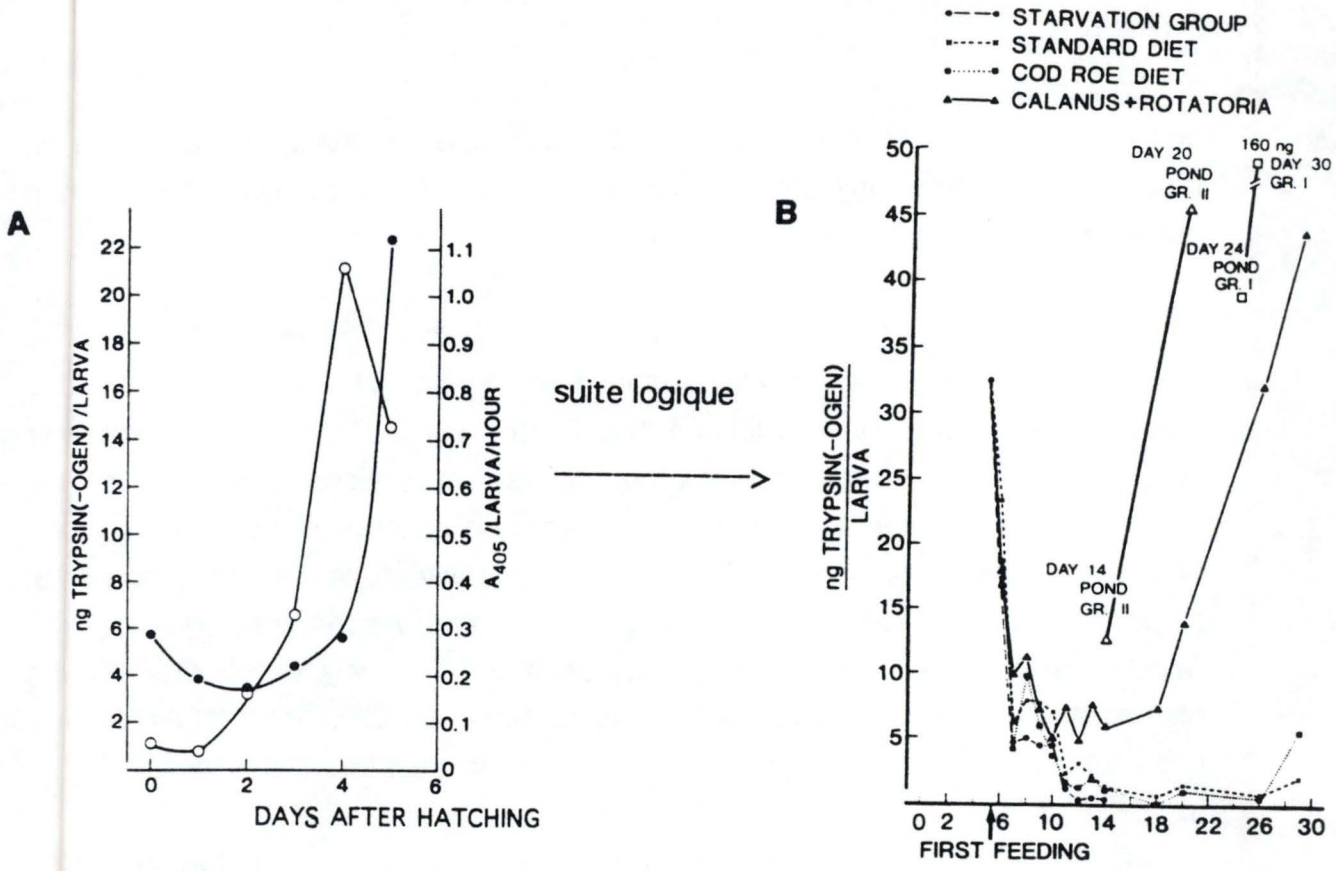


Figure 2.29: **A**: Activité enzymatique de type trypsine (●) et contenu en trypsine / trypsinogène (o) de larves de morue.
B :Contenu en trypsine / trypsinogène estimé par radioimmuno-assay dans des larves de morue d'une expérience d'alimentation.
Sont inclues dans la figure des valeurs pour des larves d'un étang où elles se nourrissaient de plancton. Le premier échantillon (jour 5) fut pris 3h. avant que les larves soient nourries. Modifié d'après HJELMELAND et HUSE (1984).

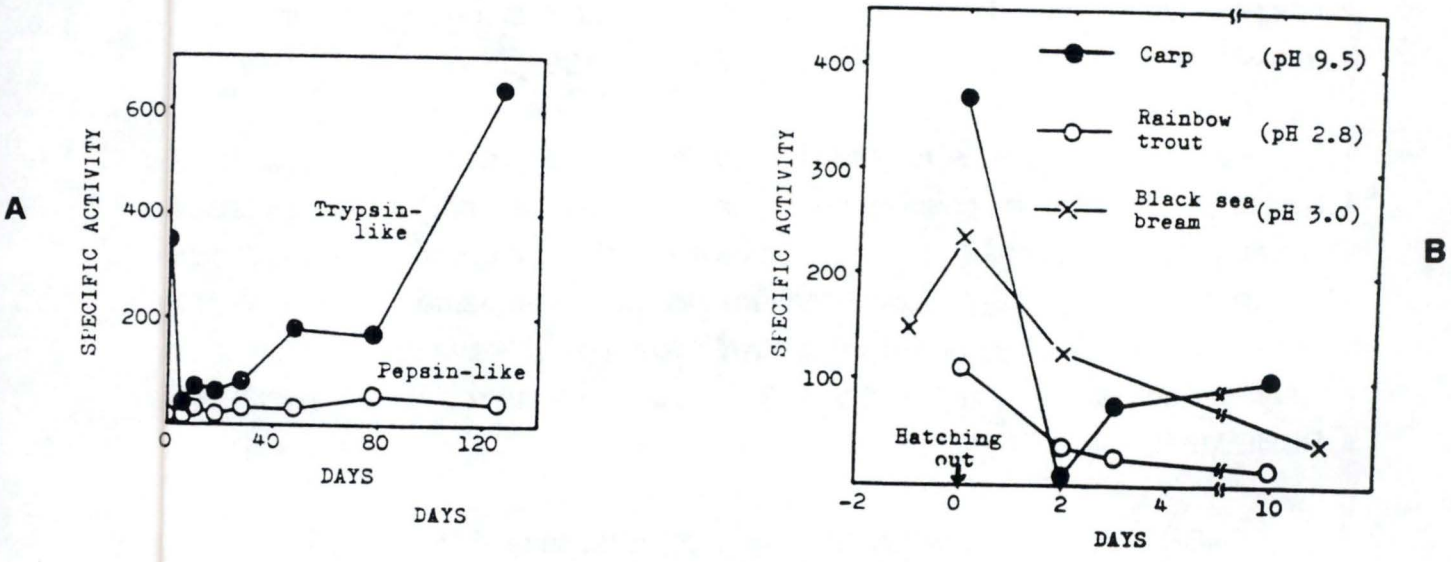


Figure 2.30 : **A** : Développement des activités protéolytiques de la carpe après l'éclosion.
B : Activités protéolytiques de la carpe, de la truite arc-en ciel et de la daurade noire avant et après l'éclosion.
Selon KAWAÏ et IKEDA (1973).

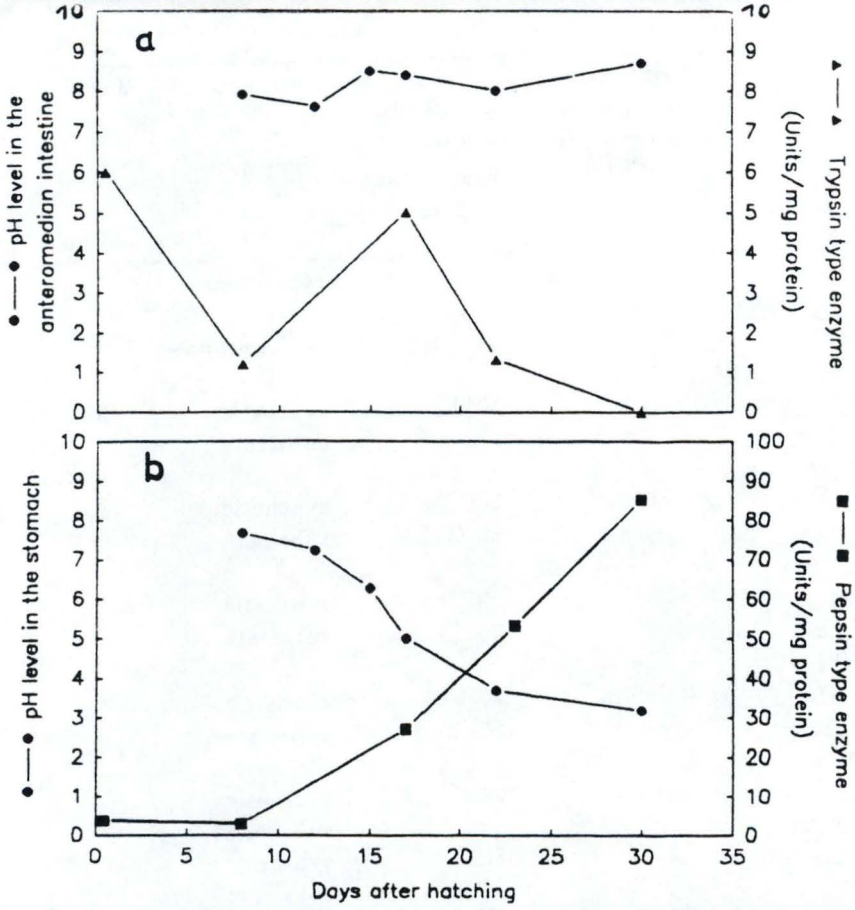


Figure 2.31 : Changement de pH dans l'intestin de larves et d'alevins de daurade (*Lates calcarifer*) nourris, et activités de types trypsine et pepsine des homogénats de poissons entiers prélevés durant le premier mois après l'éclosion.
a : pH et activité de type trypsine dans l'intestin antéro-médian.
b : pH et activité de type pepsine dans l'estomac (1 U.E. est équivalente à 1 μg de tyrosine libérée en 1 minute à 37°C).
Modifié selon WALFORD et LAM (1992).

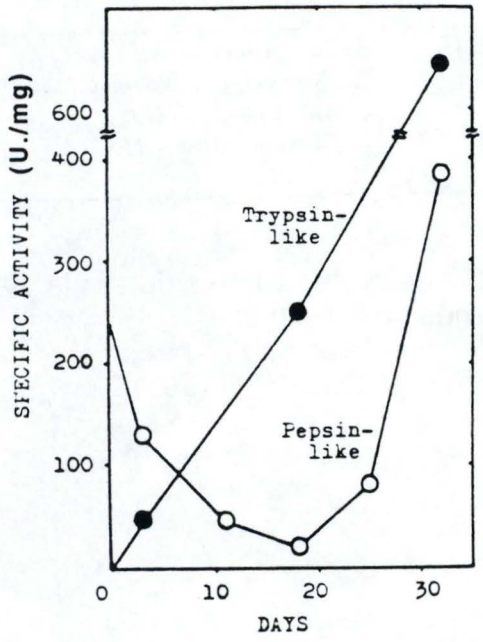


Figure 2.32 :Développement des activités protéolytiques de la daurade noire après l'éclosion (KAWAÏ et IKEDA, 1973).

Species	Temperature (°C) of fish rearing	Rise of specific proteolytic activity after first feeding (days)	Method	Author
Cod, *Gadus morhua*	5–8	13(T)	radioimmun-assay	1
Herring *Clupea harengus*	8–8.5	13–24(T)	radioimmun-assay	2
Lake Sturgeon *Acipenser fulvescens*	17	30(T)	synthetic substrate	3
Whitefish, *Coregonus lavaretus*	11	20(T) 50(Ch)	synthetic substrate	4
Roach, *Rutilus rutilus*	20	20(Ch) 20(T)	synthetic substrate	4
Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*	13	20(Ch) 20(T)	synthetic substrate	4
Dover Sole, *Solea solea*	20	24 (T, Ch)	synthetic substrate	5
Striped Bass, *Morone saxatilis*	22	8(T)	synthetic substrate	6
Atlantic salmon, *Salmo salar*	8–9	1(P)	haemoglobin (pH 3.2)	7
Sea Bass, *Dicentrarchus labrax*	14	5(T) 20(Ch)	synthetic substrate	8
Arctic charr, *Salvelinus alpinus*	11	21(T)	synthetic substrate	9

1. Hjelmeland et al. (1984)
2. Pedersen et al. (1987)
3. Buddington (1985)
4. Lauff and Hofer (1984)
5. Clark et al. (1986)
6. Baragi and Lovell (1986)
7. Timeyko and Novikov (1988)
8. Alliot et al (1980)
9. Dabrowski (unpublished)

Tableau II.4: Activité des enzymes protéolytiques durant le stade précoce de différentes espèces de poissons.
T: trypsine / Ch: chymotrypsine / P: pepsine.
Selon DABROWSKI et CULVER (1991).

ont quelques adaptations. Ainsi, chez la jeune carpe commune dépourvue d'estomac, la pinocytose d'enzymes digestifs (= réabsorption) se passe dans une petite partie de l'intestin (HOFER, 1981). Ce phénomène disparaît chez les adultes et a déjà été observé chez la carpe (ALLIOT, 1980). On voit avec ces exemples que les enzymes peuvent traduire le stade de développement du poisson, mais il faut savoir qu'elles sont aussi l'image des changements saisonniers et/ou journaliers du régime alimentaire, de la fréquence du nourrissage, de la consommation d'aliments, de la température de l'eau et des cycles naturels possibles (FISH, 1960).

b. le stade de développement

Pendant la période larvaire, il faut quelques jours ou semaines (tableau II.4) pour que l'élévation des avtivités protéolytiques prenne place, et cela dépend de l'espèce de poisson (DABROWSKI et CULVER, 1991).

Voici à présent l'évolution des activités d'enzymes protéolytiques décrite plus précisément dans des cas classés par type d'enzyme et par espèce de poisson en question :

En ce qui concerne les enzymes pancréatiques actives à pH élevé, c'est-à-dire la trypsine et la chymotrypsine :

- chez la morue (*Gadus morhua* L.), l'activité de la trypsine montre des pics: à l'éclosion et juste avant elle, 4 jours (ici, plutôt dû au trypsinogène) et 2,5 semaines après elle (Fig. 2.29 a et b). Elle enregistre ainsi une chute importante lors de la période de première alimentation. HJELMELAND et HUSE (1984) ont mesuré cette activité par un technique immunologique et ont remarqué que, 2,5 semaines après l'éclosion, il y avait aussi une plus forte croissance en poids.

- chez la carpe, omnivore, l'activité de type trypsine est aussi élevée dans les œufs et à l'éclosion, et basse juste après mais elle augmente de façon continue à partir du 3ème jour après l'éclosion et encore 4 mois après elle (Fig. 2.30 a et b). Cela fut observé par KAWAÏ et IKEDA (1973), à l'aide d'une technique utilisant un substrat chromogène, comme c'est le cas chez les auteurs qui suivent.

ont quelques adaptations. Ainsi, chez la jeune carpe commune dépourvue d'estomac, la pinocytose d'enzymes digestifs (= réabsorption) se passe dans une petite partie de l'intestin (HOFER, 1981). Ce phénomène disparaît chez les adultes et a déjà été observé chez la carpe (ALLIOT, 1980). On voit avec ces exemples que les enzymes peuvent traduire le stade de développement du poisson, mais il faut savoir qu'elles sont aussi l'image des changements saisonniers et/ou journaliers du régime alimentaire, de la fréquence du nourrissage, de la consommation d'aliments, de la température de l'eau et des cycles naturels possibles (FISH, 1960).

b. le stade de développement

Pendant la période larvaire, il faut quelques jours ou semaines (tableau II.4) pour que l'élévation des avtivités protéolytiques prenne place, et cela dépend de l'espèce de poisson (DABROWSKI et CULVER, 1991).

Voici à présent l'évolution des activités d'enzymes protéolytiques décrite plus précisément dans des cas classés par type d'enzyme et par espèce de poisson en question :

En ce qui concerne les enzymes pancréatiques actives à pH élevé, c'est-à-dire la trypsine et la chymotrypsine :

- chez la morue (*Gadus morhua* L.), l'activité de la trypsine montre des pics: à l'éclosion et juste avant elle, 4 jours (ici, plutôt dû au trypsinogène) et 2,5 semaines après elle (Fig. 2.29 a et b). Elle enregistre ainsi une chute importante lors de la période de première alimentation. HJELMELAND et HUSE (1984) ont mesuré cette activité par un technique immunologique et ont remarqué que, 2,5 semaines après l'éclosion, il y avait aussi une plus forte croissance en poids.

- chez la carpe, omnivore, l'activité de type trypsine est aussi élevée dans les œufs et à l'éclosion, et basse juste après mais elle augmente de façon continue à partir du 3ème jour après l'éclosion et encore 4 mois après elle (Fig. 2.30 a et b). Cela fut observé par KAWAÏ et IKEDA (1973), à l'aide d'une technique utilisant un substrat chromogène, comme c'est le cas chez les auteurs qui suivent.

- chez la daurade (*Lates calcarifer* L.), le début de l'évolution des activités des enzymes de type trypsine est le même que celui de la carpe. Ce n'est ici que vers le 7ème jour que les activités augmentent pour rediminuer 17 jours après l'éclosion (Fig. 2.31, WALFORD et LAM, 1992).

- chez la daurade noire (= brème de mer; *Acanthopagrus schlegelii* L.) carnivore, la même activité apparaît de la même façon, 3 jours après l'éclosion mais elle s'amplifie alors vite durant le 1er mois (Fig. 2.32 ; KAWAÏ et IKEDA, 1973). C'est aussi la cas chez la daurade rouge (*Pagrus major*) et l'augmentation dure là jusqu'au 36ème jour. Remarquons que dans ces 3 derniers cas, la période de première alimentation exogène est concomitante à une activité qui augmente et non qui chute, comme c'était le cas avec la morue;

- chez le bar (*Dicentrarchus labrax* L.), carnivore, l'activité trypsique augmente de l'éclosion au 10ème jour puis décroît jusqu'au 15ème jour et réaugmente après, jusqu'au 23ème jour, moment où elle reste stable comme par la suite. Quant à l'activité chyrmotrypsique, elle augmente régulièrement de l'éclosion au 30ème jour (ALLIOT et alii, 1977; ZAMBONINO INFANTE et CAHU, 1994). Cette évolution est semblable à celle observée chez la sole (*Solea solea* L.) chez qui les activités pancréatiques augmentent de l'éclosion à la métamorphose (ALLIOT et alii, 1980).

- chez la truite arc-en-ciel, les activités des enzymes pancréatiques augmentent jusqu'à 20-30 jours (KAWAÏ et IKEDA, 1973).

Pour ce qui est de l'enzyme stomacale active à pH bas, c'est-à-dire la pepsine :

- chez la carpe, son activité est faible dans les œufs et ne croît pas avant l'apparition des glandes gastriques (Fig. 2.30 a; KAWAÏ et IKEDA, 1973).

- contrairement, chez la daurade noire, elle est assez élevée dans les œufs, décroît après l'éclosion (Fig. 2.30 b) et s'élève 3 semaines après celle-ci, quand l'estomac s'est différencié. C'est d'ailleurs à ce moment que les larves ingèrent du zooplancton de taille plus élevée. Cela indiquerait que la digestion est surtout accomplie grâce à la trypsine les 20 premiers jours, et qu'après, la pepsine prend le relais (Fig. 2.32 ; KAWAÏ et IKEDA, 1973).

- chez la daurade, l'activité pepsique est faible à l'éclosion et juste après elle, comme chez la carpe. Elle n'augmente que vers le 8ème jour (Fig. 2.31 b). La faible activité initiale serait due à l'activité de protéases lysosomiales impliquées dans la digestion intracellulaire de l'intestin postérieur, ou à l'activité d'enzymes se situant hors du tube digestif, dans l'homogénat dosé (WALFORD et LAM, 1992).

- chez le bar, cette activité n'apparaît vraiment que 25 jours après l'éclosion et chez la sole, qu'après 10 jours, à pH 2,5 (ALLIOT et alii, 1980). L'activité spécifique est à peu près stable jusqu'à la métamorphose qui débute ici vers le 15ème jour. Une évolution similaire fut observée chez la truite arc-en-ciel (KAWAÏ et IKEDA, 1973), chez l'ayu (*Plecoglossus altivelis* L.) et chez la daurade noire (TANAKA et alii, 1972).

De ces différents cas, on peut tirer quelques hypothèses plus générales;

- les enzymes qui ont un rôle dans l'éclosion seraient actifs à pH élevé, comme la trypsine chez la carpe (YAMAGAMI, 1988) et la chymotrypsine chez le bar et la sole (SAMAIN, 1989). Cependant, chez la truite arc-en-ciel, elles s'apparenteraient plutôt à la pepsine (KAWAÏ et IKEDA, 1973). Leur nature précise est fortement dépendante de l'espèce de poisson. En fait, pendant le début de l'ontogenèse, le contenu en trypsinogène du pancréas augmente indépendamment de la quantité de nourriture ingérée mais sa sécrétion est négligeable; les larves ont toujours du vitellus à ce moment. Par exemple, chez le hareng (*Clupea harengus* L.), ce contenu atteint un maximum lorsque la prise de nourriture exogène débute et quand la sécrétion augmente. Environ une semaine plus tard, la sécrétion de trypsinogène diminue. C'est une période critique pour la larve qui serait déterminée génétiquement puisque indépendante de la densité des proies (PEDERSEN, 1990). Cette hypothèse fut confirmée par des observations de ZAMBONINO INFANTE et CAHU (1994) sur le bar. Après cette période, la production de trypsinogène réaugmente et reflète le statuts nutritionnel de la larve ainsi que le type et la taille des particules ingérées (PEDERSEN, 1993).

- la chute d'activité trypsique coïncide souvent avec l'élévation de l'activité pepsique, ce qui ne serait pas dû à des inhibiteurs des protéases mais à la réduction de la contribution des enzymes exogènes de la nourriture naturelle à la digestion totale de la larve, comme c'est le cas chez le

hareng. Ces enzymes exogènes seraient simplement dénaturées par l'acide sécrété plus abondamment par les glandes gastriques à ce stade de développement (PEDERSEN, 1993).

- les fluctuations des activités protéolytiques au cours des premiers jours de la vie des larves sont à relier aux périodes critiques.

- selon SAMAIN (1989) qui fit des études sur le bar et la sole, il existerait une relation directe entre le taux de croissance des larves et le niveau des activités protéolytiques.

- DABROWSKI (1979) a remarqué que chez les poissons possédant un estomac, le passage à l'alimentation exogène était souvent accompagné d'une activité trypsique 10 fois plus forte et d'une activité pepsique semblable par rapport aux cyprinidés chez qui l'activité pepsique est toujours très faible et probablement d'origine intracellulaire.

4.2.2.2. Les circonstances spéciales précédant les mesures

Lorsque l'estomac des larves est vide depuis un certain temps ou quand les larves sont stressées, par des manipulations, par exemple, le pH stomacal est neutre, car la sécrétion d'HCl est bloquée, et ainsi, l'activation du pepsinogène est empêchée comme chez *Lates calcarifer*. Le jeûne a pour effet plus général de réduire la capacité hydrolytique de l'intestin en réduisant l'activité des enzymes digestifs (OVERNELL, 1973). Par exemple, chez la carpe maintenue à jeun, la sécrétion d'enzymes intestinaux est très faible et augmente considérablement seulement après 2 nourrissages séparés dans le temps (HEPHER, 1988). De même, chez les larves de hareng et de turbot (*Psetta maxima* L.), l'activité protéolyique est beaucoup plus faible si on les a maintenues à jeun (ÜEBERSCHÄR, 1988).

Si les prélèvements sont réalisés lors de la maturation sexuelle, on peut remarquer que le rapport protéases/amylase diminue, comme chez la truite arc-en-ciel (ONISHI et alii, 1974). Cela semble indiquer une plus grande utilisation des carbohydrates à cette époque.

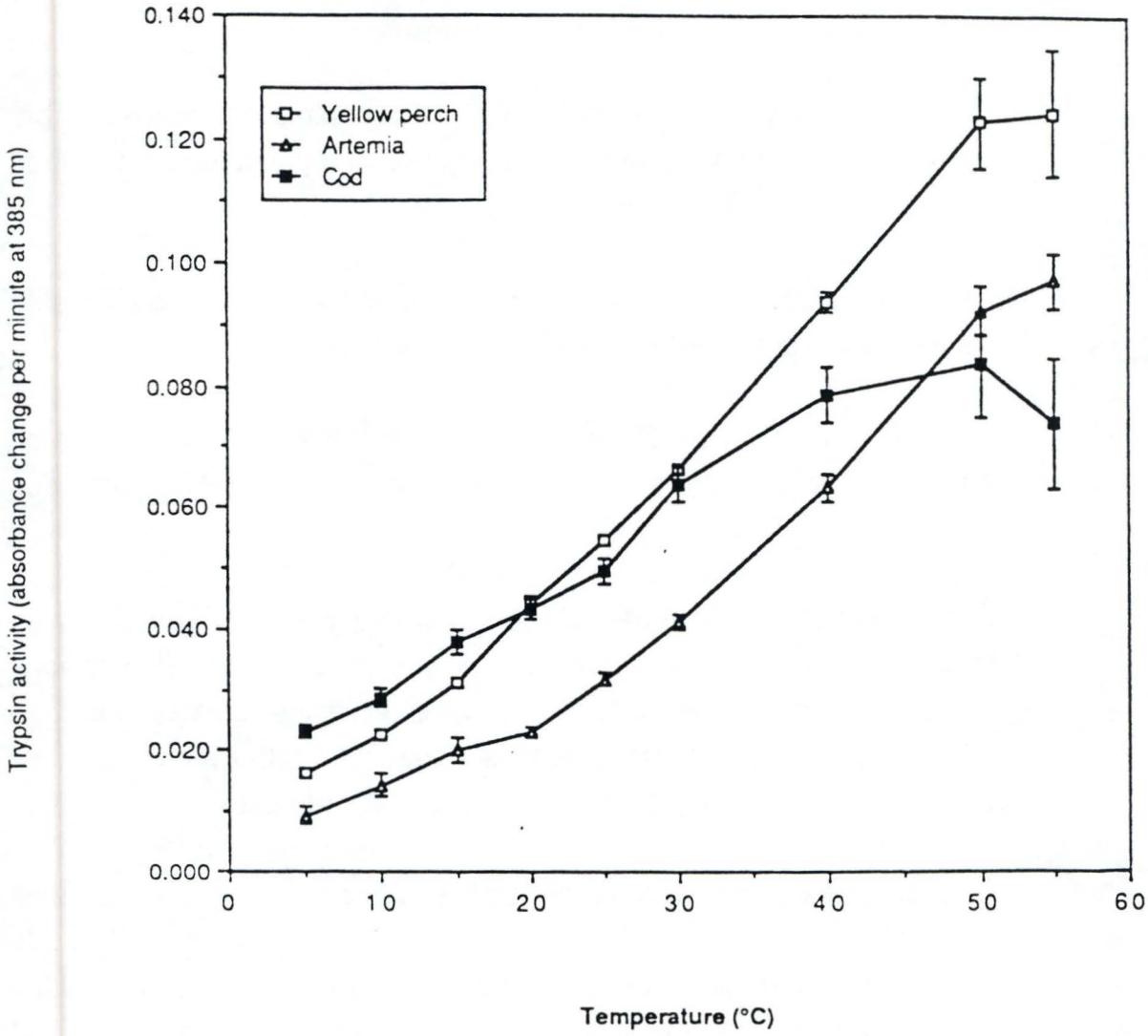


Figure 2.33 : Evolution de l'activité trypsique en fonction de la température chez la perchaude, chez *Artemia* et chez la morue.
Selon DABROWSKI (1992).
Note: les traits verticaux correspondent à l'écart-type.

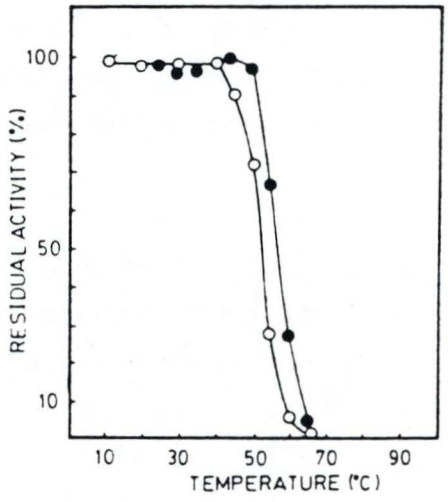


Figure 2.34 : Stabilité thermique de la trypsine de truite arc-en-ciel à pH 5,4 et à pH 8,0.
Rem. : Les solutions d'enzyme (0,1 mg / ml) ont été chauffées pendant 30 min. à la température adéquate avant les dosages de l'activité résiduelle, avec du L-BAPNA comme substrat. Les tampons utilisés étaient de l'acétate de sodium 0,1 M à pH 5,4 (o) ou du TRIS-HCl à pH 8,0 (●), les deux contenant 10 mM de $CaCl_2$ (KRISTJANSSON, 1982).

4.2.2.3. La température et la salinité de l'eau

a - la température

Contrairement aux homéothermes, les enzymes digestifs des poïkilothermes sont affectés par la température externe. Chaque enzyme a sa plus haute activité à une certaine température optimale; KITAMIKADO et TACHINO (1960) ont estimé cette température à 38-45°C pour les protéases de la truite arc-en-ciel et plus particulièrement 45°C pour la trypsine. Pour la trypsine et la chymotrypsine de *Siganus calcarifer*, les températures optimales sont respectivement de 55 °C et 30°C (SABAPATHY et TEO, 1992). Néanmoins, ces températures se situent au-delà de la température létale pour la plupart des poissons. Ainsi, plus la température est élevée, plus la sécrétion et l'activité des enzymes doivent être élevées si les conditions sont favorables. Cependant, chez certains poissons acclimatés à une température plus basse, la sécrétion d'enzyme est plus importante que, dès lors, on les habitue à une température plus élevée (SMITH, 1967).

ANANICHEV (1977) a trouvé des activités maximales des protéases lors des périodes de prise d'aliments intensive. C'est par exemple, en été, pour le sandre. Ce serait à relier avec la température chez cette espèce. Une augmentation de température accélère le taux de passage des aliments dans le tube digestif mais cela est compensé par une sécrétion et une activité accrue des enzymes digestifs. Un facteur synthétisant les influences de la température est la digestibilité des aliments. CHO et SLINGER (1979) ont montré, chez la truite, qu'elle ne variait pas entre 9 et 15°C (avec une acclimatisation) mais bien qu'elle augmentait de 15 à 18°C. Ainsi, bien que la digestibilité ne varie pas fortement avec la température, le taux de digestion, lui, change. Cela permet au poisson de manger plus et ainsi d'assouvir ses besoins énergétiques accrus à cause de la plus haute température (BRETT et alii, 1969).

La Fig. 2.33 donne une idée de l'influence de la température sur l'activité trypsique de la perchaude (DABROWSKI, 1992).

De même, la Fig. 2.34 montre l'effet de la température sur l'activité résiduelle de la trypsine de la truite arc-en-ciel. Les Fig. 2.35 a et b indiquent l'influence du pH et la présence de $CaCl_2$ sur cette même activité pour rappeler que ces 2 facteurs ont aussi beaucoup d'effet comme la température.

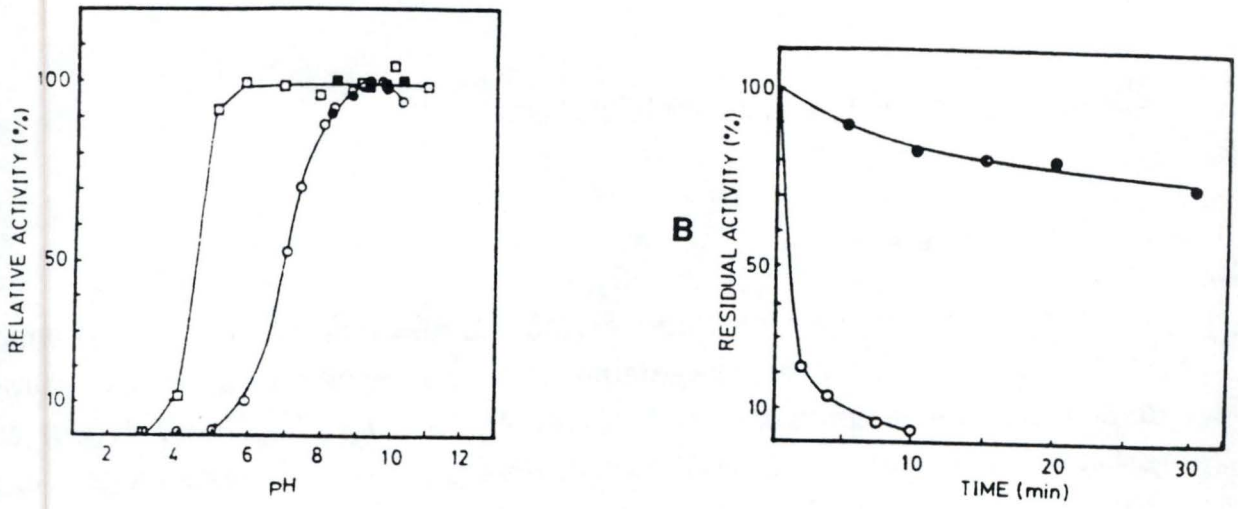


Figure 2.35 : **A** : Effet du pH sur la stabilité (□,■) et l'activité avec du L-BAPNA comme substrat à 25°C (o,●) de la trypsine de truite arc-en-ciel. Les symboles non noircis représentent des valeurs obtenues par des mesures dans un tampon universel et, les symboles noircis, celles avec du tampon 50 mM glycine/NaOH.

B : Effet du $CaCl_2$ sur la stabilité thermique de la trypsine de truite arc-en-ciel. L'enzyme fut dissout dans du tampon TRIS-HCl 0,1 M à pH 8,0 contenant 1 mM d'EDTA avec ou sans15 mM de $CaCl_2$. Cela fut chauffé à 55°C. L'activité résiduelle est mesurée par rapport à celle d'un échantillon non chauffé, avec 15 mM de $CaCl_2$ ou en absence de $CaCl_2$ (KRISTJANSSON, 1982).

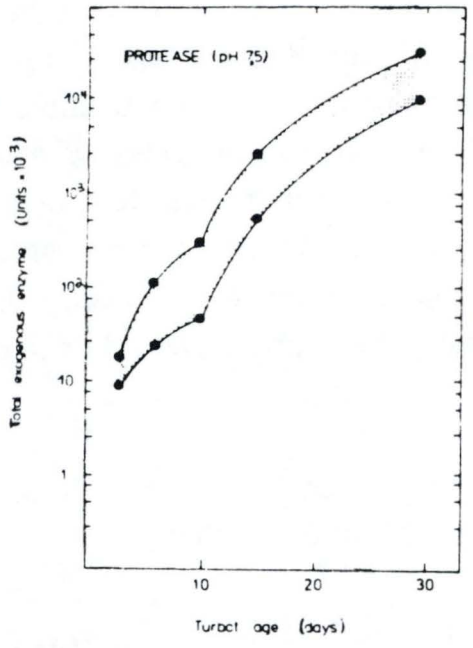


Figure 2.36 : Evolution de l'activité (maxima et minima) des enzymes exogènes qu'on a isolé dans l'intestin de larves de turbot en fonction de leur âge.
D'après MUNILLA-MORAN et STARK (1989).

b - la salinité

La salinité de l'eau, et ainsi sa concentration en NaCl, interfère indirectement avec l'activité pepsique de l'estomac, car la sécrétion acide d'HCl activant la pepsine est due à la réaction suivante : H_2CO_3 + NaCl —> $NaHCO_3$ + HCl. Mac LEOD (1977) trouva que la digestibilité de matière sèche chez la truite arc-en-ciel chutait linéairement avec la salinité de l'eau. L'activité trypsique de la brème de mer est plus élevée quand ce poisson est nourri dans de l'eau à une salinité de 6 ‰ que lorsqu'il est élevé dans de l'eau de mer (ALLIOT et alii, 1983) à la même température de 22°C.

4.2.2.4. La présence d'enzymes exogènes

La contribution des enzymes des proies à la digestion peut mener à une réduction de la production d'enzymes endogènes. Ainsi, chez les larves de gardon, le zooplancton ingéré a une contribution de 25 % dans l'activité trypsique globale du contenu intestinal (LAUFF et HOFER, 1984).

Ces mêmes auteurs ont confirmé les résultats de DABROWSKI et GLOGOWSKI (1977 a) en démontrant que les enzymes exogènes pouvaient contribuer de 70 à 80 %, à l'activité enzymatique totale du tube digestif, notamment chez les poissons blancs (*Coregonus sp.)*. JANCARIK (1964) propose que l'activité de ces enzymes ne s'ajoute pas à celle des enzymes endogènes mais plutôt qu'elles activent les enzymes de la larve. Ce phénomène aurait beaucoup d'importance chez les larves se nourrissant de zooplancton et dont la sécrétion d'enzymes n'est pas complètement développée. En effet, chez les adultes, cette activation semble facultative. En réalité, le zooplancton contribue aussi à la digestion larvaire par son autolyse. Celle-ci serait amorcée par les dommages infligés au zooplancton par les dents pharyngiennes de la larve, lors de l'ingestion (RÖSH et SEGNER, 1990).

MUNILLA-MORAN et STARK (1989) montrèrent que, chez la larve de turbot (*Scophthalmus maximus*), la contribution des enzymes exogènes à la digestion globale augmentaient avec l'âge (Fig. 2.36). Pourtant, cette larve possède un système digestif complet lors de la première alimentation exogène. Il faut savoir que le contenu enzymatique des *Artemia,* petits crustacés brachiopodes composants du zooplancton et aliiiment naturel souvent produit en masse en larviculture, dépend de leur état nutritionnel et augmente avec leur âge (MARCO

A

Treatment	Initial weight (mg)	Final weight DW, (mg)	Survival (%)
Live food	0.165	0.479	24.4
Micro-no panc.	0.165	0.233	13.7
Micro-0.05% panc.	0.165	0.345	16.5
Micro-0.1% panc.	0.167	0.346	17.5

B

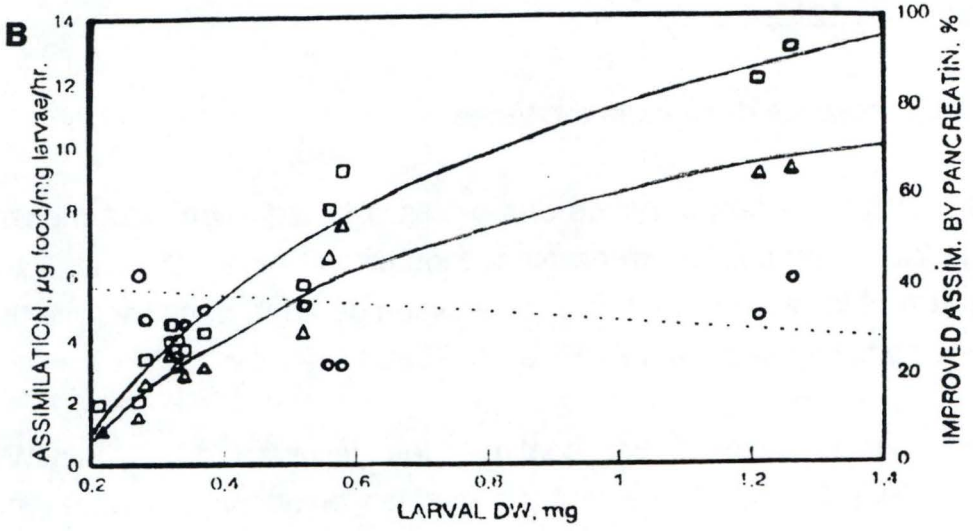


Figure 2.37 : **A**: Survie, poids initiaux et finaux de larves de *Sparus aurata* nourries avec des aliments vivants ou des aliments artificiels additionnés de Pancreatine ou pas, à 2 doses différentes.

B: Taux d'assimilation d'aliments secs composés chez des larves de 20 jours de*Sparus aurata* nourries pendant 10 jours. Selon KOLKOVSKI *et al.* (1993).

□ : aliment avec de la Pancreatine;

Δ : aliment sans Pancreatine;

O : %age d'accroissement dans l'assimilation grâce à l'addition de Pancreatine .

et alii., 1980). Il vaut en moyenne 9,3 mU/mg de protéine (activité trypsique) et 4.0 mU/mg de protéine (activité chymotrypsique).

Chez le bar, la contribution de ces enzymes n'explique pas les variations d'activité observées deux heures après le repas, car elle n'est que de 25 %, en ce qui concerne la digestion totale. De ce fait, la participation à la digestion de ces enzymes exogènes semble négligeable chez le bar, bien qu'elle soit mentionnée par DABROWSKI (1979) et LAUFF et HOFER (1984) chez d'autres espèces.

Des tentatives pour augmenter la digestibilité d'aliments artificiels, en leur ajoutant des enzymes digestifs ont eu divers succès. Pour DABROWSKI (1979), ce fut un échec avec la carpe. Par contre, DABROWSKI et GLOGOWSKI (1977 a) ont testé l'effet d'un ajout de trypsine bovine à un aliment chez des larves de carpe et ont montré que lorsque cette enzyme était ajoutée en égale et en triple quantité à celle trouvée dans l'aliment naturel, l'activité protéolytique provenant de l' hépatopancréas en était augmentée dans les mêmes proportions. De même, KOLKOWSKI et alii (1993) montrèrent que, avec des larves de daurade (*Sparus aurata)*, l'ajout (0,05 à 0,1 % du poids sec de l'aliment) d'un extrait pancréatique de porcin (= Pancreatine) à un aliment augmentait la capacité d'assimilation de celui-ci de 30 %. Et surtout, la croissance en poids de ces larves, après 10 jours, était de 21,7, de 57,2 et de 100 % quand elles étaient nourries avec, respectivement, un aliment artificiel sans ajout, un aliment artificiel avec des enzymes en suppléments, et un aliment naturel (Fig. 2.37 a et b). Selon eux, il y aurait plutôt un problème lors de l'ingestion de l'aliment composé.

Parlons maintenant du résultat de l'ajout d'un enzyme stomacal, la pepsine. Chez des juvéniles de truite arc-en-ciel, MAC CARTNEY (1974) a montré qu'un tel ajout à un aliment réduisait la croissance lorsque la ration alimentaire était normale tandis qu'il faisait doubler les activités trypsique et chymotrypsique quand on doublait la ration.

De ces différents cas, on peut retirer que les effets positifs d'un ajout d'enzymes protéolytiques à un aliment artificiel sont, soit inexistants, soit petits. Cela serait expliqué par la diminution de la production d'enzymes endogènes (DABROWSKI et GLOGOWSKI, 1977 a, cité par LAUFF et HOFER, 1983) et le lessivage rapide des aliments (GRABNER et alii, 1982).

Sachant que les délais d'activation des enzymes des poissons sont plus courts, comparés aux mammifères, il faut être attentif à l'origine de l'enzyme

Feeding level (g fish day)	Nutrients		
	Proteins	Lipids	Fibres
2	86.0	87.5	86.8
4	81.0	85.4	87.1
6	88.3	94.1	93.7

Tableau II.5: Coefficients de digestibilité (en %) des protéines, des lipides et des fibres chez la carpe commune nourrie avec des aliments à base de riz, à différents taux de nourrissage.
Modifié selon BONDI et SPANDORF (1957).

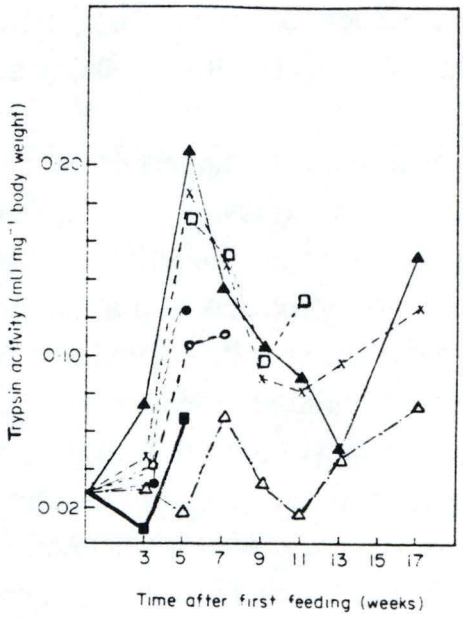


Figure 2.38 : Activité trypsique durant le début de l'ontogenèse du saumon alpin (DABROWSKI, 1991).
●: traitement 1 ; x: traitement 2 ; ▲: traitement 3 ; □: traitement 4 ; O: traitement 5 ; ■: traitement 6 ; Δ: nourriture naturelle.
Rem.: composition des traitements—>annexe II.1.

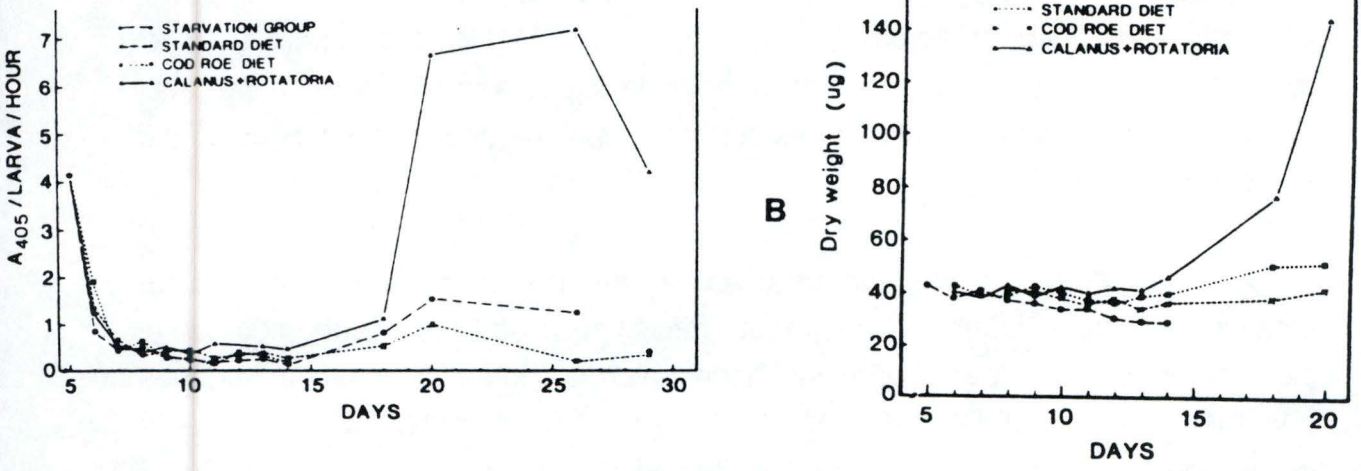


Figure 2.39 : **A** : Activité de type trypsine estimée par une méthode immunologique dans des larves de morue soumises à différents régimes au cours des jours suivant leur éclosion.. Abscisse exprimée en jours après l'éclosion.

B : Poids secs de larves de morue de la même expérience. Chaque valeur représente la moyenne de 30 à 40 larves pesées individuelllement. Abscisse exprimée en jours après l'éclosion. D'après HJELMELAND et HUSE (1984).

ajoutée. Par exemple, la Pancreatine est mammalienne et une très petite quantité de celle-ci est suffisante pour activer au maximum les zymogènes des larves de poisson (DABROWSKI, 1984).

4.2.2.5. La quantité et la qualité des aliments

a - la quantité

Ce facteur semble ne pas influencer beaucoup la digestibilité, ce qui fut observé chez la carpe (tableau II.5; BONDI et SPANDORF, 1957). Cette petite influence est expliquée, jusqu'à un certain point de remplissage de l'estomac, par le fait que la distension mécanique de cet organe induit une sécrétion accrue d'enzymes. Cependant, ce n'est pas toujours vrai; HENKEN et alii (1985) trouvèrent que la digestibilité apparente des protéines était, chez le poisson-chat (*Clarias gariepinus* L.), corrélée négativement avec le niveau de nourrissage. Selon ÜEBERSCHÄR (1985), le niveau de trypsine diminue chez les larves de hareng à jeun.

Parallèlement à la quantité d'aliment distribuée, la fréquence des nourrissages pourrait avoir des effets. Selon HUDSON et DE LA NOUE (1984), elle n'aurait pas d'influence sur la digestibilité apparente de la matière sèche, lorsqu'on passe de 2 à 6 nourrissages par jour. Ainsi, il semble que la digestion chez les poissons est régulée efficacement et qu'elle est stable dans diverses situations.

b - la qualité

Les aliments artificiels amènent souvent une faible croissance et une mortalité élevée (MUNILLA-MORAN, 1990) et ils peuvent même faire disparaître le gradient d'activité enzymatique qui existe entre l'I.A. et l'I.P., après 2 semaines de nourrissage (HOFER, 1982). En fait, l'affinité des enzymes protéolytiques pour ces aliments n'est pas nulle mais réduite. Cela cause une hydrolyse insuffisante des protéines et donc une faible utilisation de la nourriture.

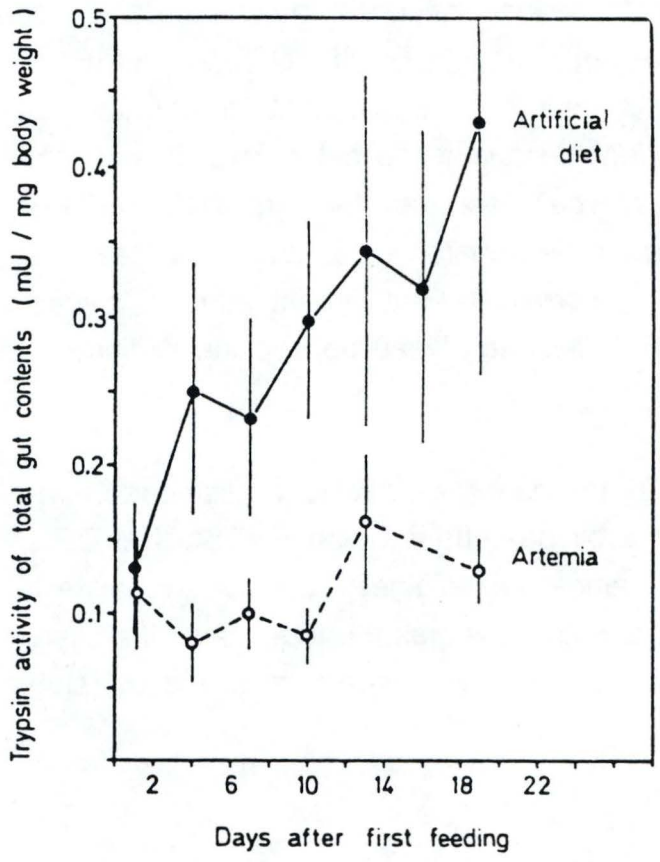


Figure 2.40 : Activité trypsique du contenu intestinal entier de larves de gardon nourries de nourriture artificielle ou d'*Artemia*. Selon HOFER et KÖCK (1987).

Tableau II.6: Influence des aliments artificiels composés sur les activités enzymatiques de différents poissons, par rapport à ces mêmes activités chez les poissons nourris d'aliments vivants ou non composés, considérés comme témoins.

Espèce considérée	**Facteur influencé**	**Effet engendré par l'aliment artificiel**	**Alimentation naturelle (=témoin)**	**Auteur**
saumon alpin (*Salvelinus alpinus*)	Activité tryps. Activité chymo.	X 10 après 21 j identique	*Artemia* et tubificidés	DABROWSKI (1991) (Figure 2.38)
bar	Toutes les activités sauf trypsine	augmentation	*Artemia*	ZAMBOBINO INFANTE et CAHU (1993)
gardon	Activité tryps. du tube digestif entier	augmentation (plus forte dans I.A.)	*Artemia*	HOFER et KÖCK (1987) (Figure 2.40) HOFER et NASIR-UDDIN (1985)
poisson-chat (*Clarias gariepinus*)	Activité tryps. Activité chymo.	identique X 2	*Artemia*	LOVELL (1984)
Pagellus acarne	Protéases	baisse du contenu	abats de poiss. congelé	CARUSO et *al.* (1993)
morue	Activité tryps.	diminution	*Calanus* et *Rotatoria*	HJELMELAND et HUSE (1984) (Figure 2.39)
carassin doré (*Carassius auratus*)	Activité tryps.	diminution	*Artemia*	ABI-AYAD et KESTEMONT (1994)
Coregonus sp.	Activité tryps	identique	*Artemia*	HOFER et KÖCK (1987)

Tableau II.7: Influence de la teneur en protéines d'un aliment conposé sec sur les activités des enzymes protéolytiques.

Facteur influencé	**Nature de l'influence et de l'espèce considérée**	**Auteurs**
Activité trypsique	corrélation négative chez le gardon	HOFER (1985) ROY et SCHNEEMAN (1982)
Activité protéolytique	corrélation négative chez le gardon	HOFER (1982)
Activité trypsique entre le 20ème et le 50ème jour après l'éclosion	corrélation négative chez le bar	PERSON-LE-RUYET et *al.* (1989)
Activité trypsique	corrélation négative chez le crustacé *Penaeus japonicus*	RODRIGUEZ et *al.* (1993)
Activité protéolytique	corrélation positive chez la truite arc-en-ciel et chez le saumon	KAWAI et IKEDA (1973)
Activité enzymatique générale	aucune relation chez le bar rayé; *Morone saxatilis*	BARAGI et LOVELL (1986)

Voyons maintenant l'effet d'un aliment artificiel chez différentes espèces de poisson grâce au tableau II.6. Voici quelques précisions à ce sujet:

- HJELMELAND et HUSE (1984) ont remarqué que, chez la morue, le pic d'activité concomitant au sevrage sur aliment artificiel correspondait au moment où le poids sec augmentait fortement (vers le 20ème jour dans cette expérience ; Fig. 2.29 a et b).

- HOFER et KÖCK (1989) ont observé qu'avec l'aliment artificiel, l'activité trypsique était plus forte dans l'I.A. que dans l'I.P. (Fig. 2.41 a et b). Ce serait un mécanisme compensatoire au fait que cet aliiiment est dépourvu d'enzymes.

Quelquefois, ces différents effets pourraient être expliqués par la différence de teneur protéique entre les aliments artificiel et naturel. Mais, selon les espèces et les auteurs, cette teneur influence de façon différente les activités des enzymes protéolytiques. Le tableau II.7 nous le montre.

Ces observations parfois contradictoires sont expliquées de différentes manières selon les auteurs

- Selon HEPHER (1988), la digestibilité des protéines diminue si le contenu en carbohydrates de l'aliment ingéré augmente. Il l'explique par le fait que la portion non digérée de carbohydrates passe rapidement dans l'intestin et entraîne ainsi quelques protéines (ex.: des protéases).

- HOFER (1982) ayant remarqué que, chez les carnivores, les aliments ont un haut contenu protéique et que leurs pertes enzymatiques via les fèces sont importantes, imagina l'existence d'un phénomène de réabsorption d'enzymes qui dépendrait du contenu protéique de l'aliment et du turn-over de la nourriture ingérée. Ce mécanisme serait moins efficace chez les adultes que chez les larves, surtout si on leur donne des aliments artificiels.

  En fait, le temps disponible pour la digestion étant réduit et l'activité spécifique trypsique diminuée, une compensation serait l'extension de la protéolyse à la section postérieure de l'intestin grâce à un "switch" (= un arrêt) du mécanisme de réabsorption enzymatique. Cependant, cela pourrait avoir un effet négatif sur la balance des protéines (HOFER, 1989).

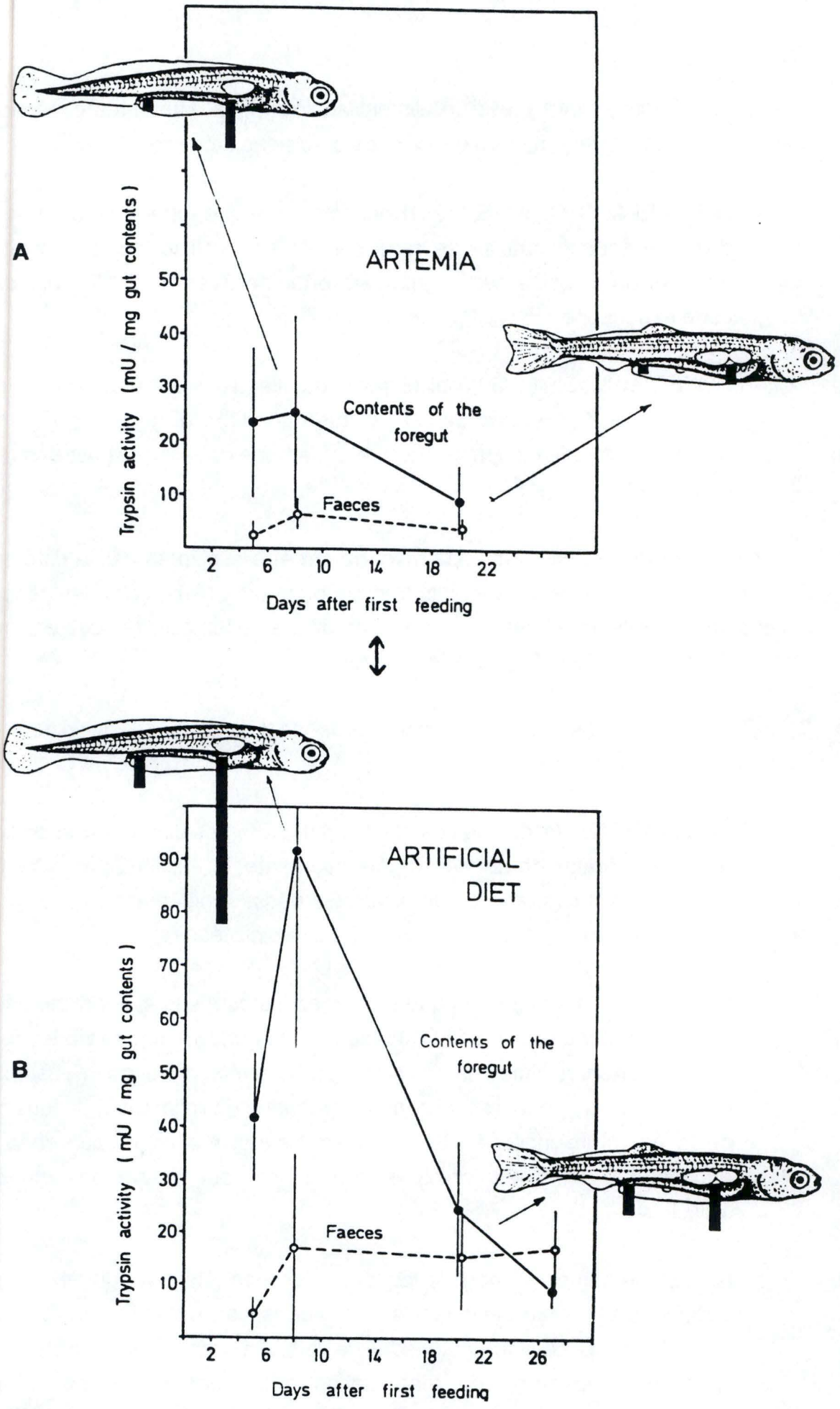


Figure 2.41 : Activité trypsique du contenu de l'intestin antérieur et des fèces de larves de gardon nourries d'*Artemia* (**A**) ou d'aliments artificiels (**B**). Modifié selon KÖCK et HOFER (1987).

Ce phénomène du switch a été observé par ESHEL (1993) chez des larves de bar rayé hybride (femelle *Morone saxatilis* X mâle *Morone chrysops*) et par HOFER et KÖCK (1987) chez des larves de gardon. Contrairement, chez les poissons blancs (*Coregonus* sp.), l'efficacité de la réabsorption enzymatique augmente après la métamorphose, seulement chez les poissons qui ont reçu de l'aliment artificiel (HEPHER, 1988).

- selon SAMAIN et alii (1989), les activités des enzymes pancréatiques croissent lorsque le taux de croissance s'améliore fortement. En réalité, la synthèse des enzymes digestifs peut être activée ou réprimée selon le degré de couverture des besoins de tout genre de la larve par l'aliment. Ainsi, lorsque le poisson est en état de famine soudaine, il diminue sa synthèse enzymatique si sa nourriture était déjà limitante avant, ou il augmente temporairement celle-ci si sa nourriture était saturante (Fig. 2.42).

De toutes ces informations, on peut conclure que la mauvaise acceptation d'un aliment artificiel chez des larves peut être due à l'insuffisance de l'activité digestive des enzymes et/ou à la mauvaise stimulation de la sécrétion d'enzymes (PEDERSEN et alii, 1990) et/ou au manque d'activateurs enzymatiques dans l'aliment et/ou à l'absence d'enzymes exogènes (DABROWSKI et GLOGOWSKI, 1977 a) et/ou, en l'absence d'un estomac, à la trop petite fourniture en acides aminés libres par l'aliment artificiel. Le point de non-retour pourrait même être expliqué par un manque d'enzymes digestifs (DABROWSKI, 1975).

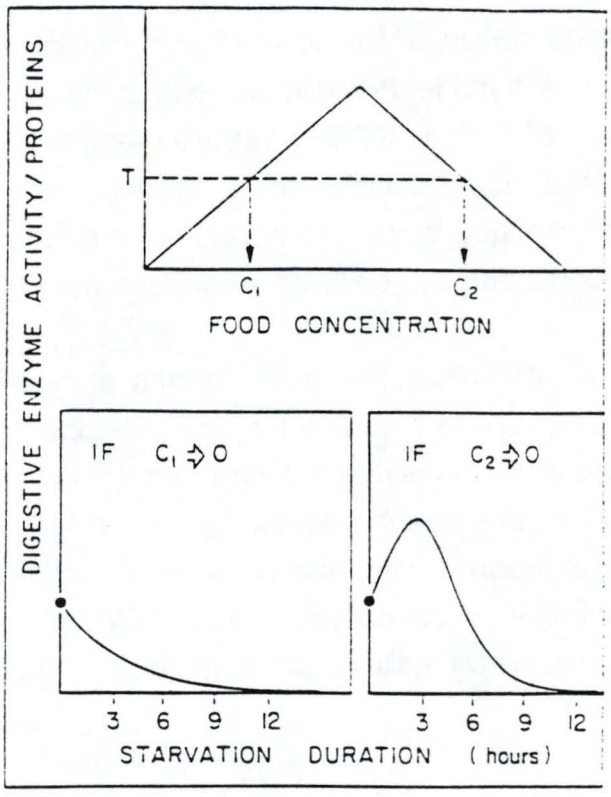


Figure 2.42 : Modèle de réponse des activités spécifiques des enzymes digestifs (T) selon SAMAIN et *al.* (1989).
En haut: : en fonction de la nourriture.
En bas : en fonction de la durée d'un jeûne soudain (heures).
Hypothèse de l'animal en condition au préalable de nourriture C1 (à droite) et C2 (à gauche).

4.3. ABSORPTION DES ALIMENTS

4.3.1. Rappel sur le métabolisme protéique des poissons

Les acides aminés provenant de l'hydrolyse des chaînes protéiques servent, chez les poissons, de blocs de construction pour les nouvelles protéines, mais aussi comme source d'énergie majeure, de concert avec les lipides, via diverses chaînes métaboliques comme le cycle de Krebs, la gluconéogenèse ou la lipogenèse (MOREAU, 1988).

Ayant remarqué que les poissons à jeun réduisaient le catabolisme de leurs enzymes lorsqu'on leur redonnait de la nourriture et qu'ils récupéraient,. DABROWSKI (1992) montra qu'il se passait le même phénomène quand les poissons passaient d'un régime de carnivore à un d'herbivore. En réalité, le facteur limitant est le taux d'oxydation des squelettes carbonés des acides aminés essentiels.

4.3.2. Absorption des aliments et besoins protéiques

Les poissons carnivores ont des régimes équilibrés et riches en protéines mais pauvres en carbohydrates, ce qui fait que, chez eux, l'absorption d'acides aminés est plus importante que celle des sucres (DABROWSKI, 1991). Cela accroît leurs besoins énergétiques, car le catabolisme des protéines requiert plus d'énergie.

C'est le cas inverse chez les poissons herbivores (HORN, 1989) et chez les omnivores, il n'y a pas de règles constantes. Ainsi, des différences dans l'absorption intestinale des poissons existent, de même que la plasticité phénotypique et l'efficacité adaptable des voies métaboliques. Par exemple, DABROWSKI (1983) a remarqué que, chez la perchaude, quand la composition de l'aliment artificiel s'éloigne de celle de l'aliment naturel, la digestion protéique est déplacée vers l'intestin postérieur dans lequel le phénomène de pinocytose est alors plus fréquent.

Selon plusieurs études (SANTIAGO et REYER, 1992), les besoins protéiques des poissons adultes sont pleinement satisfaits quand la teneur protéique des aliments est de 30 à 42 %. En fait, la digestion et/ou l'absorption des nutriments est régulée très finement selon un processus appelé "assez mais pas

trop" par DIAMOND (1991). Le taux de croissance sera d'ailleurs maximal quand le taux d'ingestion en protéines couvrira les besoins d'entretien et de croissance.

Ainsi, les larves ingèrent et digèrent plus de nourriture que les adultes sur une base de poids relatif, l'absorption de nutriments étant plus faible chez les premières bien que leur taux de synthèse protéique soit plus grand d'un ordre de grandeur. En réalité, leur turn-over protéique est considérable mais il leur permet de forts taux de croissance, car la différence entre la synthèse et la dégradation protéique est à son maximum. De ce fait, la synthèse protéique peut se faire à un faible coût énergétique chez les larves, vu leur grande efficacité de rétention des protéines nouvellement synthétisées et le faible coût énergétique de maintenance dû à leur petite taille (HOULIHAN, 1991). Cela leur est bien nécesaire, car leur taux de croisance en protéines constitutives est élevé.

Chez les juvéniles de perche, les aliments ne seront digestibles que s' ils contiennent au moins 42 % de protéines et 8 à 10% de lipides au maximum (GREGOIRE, 1992). Comme les larves utilisent intensivement les lipides de réserve pour se fournir en énergie, il faut, dans l'aliment artificiel, un rapport protéines/énergie maximale. Par exemple, la perche a des besoins en acides gras (n-3) (permettant le maintien de la fluidité membranaire et un bon développement du foie) supérieurs à ceux du poisson-chat américain (*Ictalurus punctatus*), peu sensible à l'absence d'acides gras dans l'alimentation.

4.3.3. Comparaison entre les aliments vivant et artificiel

Une différence importante réside dans le fait que l'aliment vivant est plus souvent ingéré que l'aliment artificiel et qu'il correspond aux besoins naturels du poisson. De plus, il contient déjà des enzymes protéolytiques et ceux-ci aident à la digestion intestinale du poisson, ce qui favorise leur absorption finale. L'aliment artificiel, s'il se détériore lorsqu'il est dans l'eau, peut diminuer son absorption future par le tube digestif de la larve.

En résumé, l'aliment artificiel, en plus d'avoir une influence positive, négative ou nulle sur les activités enzymatiques, selon les espèces, provoque un rétrécissement des hépatocytes irrégulièrement liés (ABI-AYAD, 1991), une croissance lente, l'apparition de malformations et l'augmentation du taux de mortalité. Cela est d'autant plus vrai que cet aliiiment ne répond pas aux besoins des larves.

Tableau II.8: Avantages et inconvénients de l'utilisation d'aliments artificiels en pisciculture.

AVANTAGES	INCONVENIENTS
L'installation demande peu de surface	Les coûts d'installation sont assez élevés
Coût blobal assez bas, car élimination du coût d' élevage et de récupération de l'aliment naturel	Coût des aliments artificiels élevé si composition et granulométrie peu communes
Introduction de peu de contaminants et de peu de maladies	Qualité de l'eau réduite et risque de mauvais gonflement de la vessie natatoire accru (BARROWS, 1988)
Distribution des aliments automatisable	Faible acceptation de l'aliment par les larves si sevrage trop précoce
Carences et/ou déformations pathologiques si composition de l'aliment non adéquate	Carences et/ou déformations pathologiques si composition de l'aliment non adéquate

Tableau II.7: Méthode d'incubation des cystes d'*Artemia*. D'après KESTEMONT et MELARD (1994).

1 Incubation de cystes d'*Artemia* en bassin cylindrique de 46 litres dans de l'eau saumâtre (S = 25 ‰) fortement agitée par aération et éclairée

2 Eclosion des nauplii après 24 heures à 28-32°C. (taux d'éclosion = 35 à 83 % selon les origines)

3 Arrêt de l'aération pour séparer les nauplii (au fond et en pleine eau) des coques vides (en surface)

4 Eclairage par le dessous du bassin pour attirer vers le fond tous les nauplii (photophiles)

5 Récolte des nauplii sur tamis de 250 µm, distribution directe sous la forme vivante ou congélation

5. DESCRIPTION ET PRODUCTION DES *ARTEMIA*

Les *Artemia* sont des crustacés brachiopodes d'eau saumâtre. C'est l'aliment naturel de démarrage le plus utilisé en larviculture, car les œufs de durée (cystes) des *Artemia* sont disponibles en grande quantité et les nauplii et métanauplii assez faciles à produire.

Cet aliment convient pour les larves de plus ou moins 7 mm de long et peut être distribué à partir de 3 ou 4 jours après l'éclosion, vivant ou congelé. Si les *Artemia* ont été congelés, l'activité de leurs protéases est préservée mais ils attirent moins les larves (MARCO et alii, 1980).

La méthode d'incubation des cystes et de récolte des *Artemia* est résumée dans le tableau II.7.

6. PRECISIONS A PROPOS DES ALIMENTS ARTIFICIELS ET DE L'ELEVAGE INTENSIF

6.1. LES AVANTAGES ET INCONVENIENTS DE L'ELEVAGE INTENSIF

Les principales causes de la mortalité des larves dans la nature sont le manque de nourriture, la prédation, une température inadéquate et les maladies. En principe, tous ces facteurs sont éliminés dans un élevage intensif où l'on contrôle beaucoup de paramètres. Cependant, dans ce cas, il n'est pas souvent possible d'apporter de l'aliment naturel de la taille idéale, au bon moment et en quantité suffisante. C'est pourquoi l'aliment artificiel est la seule alternative dans ce type de pisciculture. Les avantages et inconvénients majeurs de l'utilisation des aliments artificiels sont résumés dans le tableau II.8.

6.2. LA COMPOSITION DES ALIMENTS ARTIFICIELS

Celle-ci doit être la plus proche possible de celle de l'aliment naturel. Il faut, de ce fait, connaître la composition biochimique du zooplancton, celle de son équipement enzymatique et la participation de celui-ci à la digestion larvaire. Les particules alimentaires doivent être stables dans l'eau, agréables au goût pour les poissons (=attractives), digestibles, complètes au niveau des besoins nutritionnels des larves, c'est-à-dire homogènes, fraîches et non contaminées, et de taille adaptée à l'ouverture de la bouche des larves. En fait, ces aliments doivent contenir les acides aminés essentiels et les acides gras polyinsaturés essentiels, surtout pour les carnivores qui ont moins de capacités à modifier ceux-ci.

Sont indispensables aussi certaines vitamines et des sels minéraux, surtout chez les poissons possédant un estomac et utilisant du NaCl pour fabriquer leur suc gastrique (BARROWS et alii, 1988).

L'aliment artificiel doit aussi éviter de provoquer un mauvais gonflement de la vessie gazeuse des larves, par la création d'un film huileux de surface, ou de conditions idéales à la prolifération bactérienne pouvant obstruer le conduit pneumatique présent temporairement chez les larves.

Pratiquement pour formuler des aliments composés, il faut d'abord déterminer l'ontogénie des caractéristiques majeures morphologiques et physiologiques de l'espèce en question, dans des conditions de croissance idéales, et tester si celle-ci détermine le choix des aliments, et dans quelles mesures. De mauvais résultats peuvent être attribués aussi bien à l'aliment lui-même (bonne stabilité dans l'eau obtenue au prix d'un lessivage important) qu'à la larve (tube digestif rudimentaire et stress dû aux conditions artificielles).

6.3. LA QUANTITE DES ALIMENTS ET LA FREQUENCE DE LEUR DISTRIBUTION

Cette quantité est exprimée couramment en pourcentage du poids corporel et est fonction du stade de développement. En effet, les larves ont des besoins spécifiques plus importants que les adultes. C'est pourquoi l'aliment artificiel qui est indispensable à la pisciculture intensive à grande échelle, doit être directement et continuellement disponible pour les poissons, tout en étant pratique et performant pour le pisciculteur.

CRITERES DE SELECTION POUR LES SOURCES D'ALIMENT

POUR LE PISCICULTEUR

DISPONIBILITE

BON RAPPORT QUALITE - PRIX

SIMPLICITE

ADAPTABILITE

POUR LE PREDATEUR

au niveau physique:

PURETE
DISPONIBILITE
ACCEPTABILITE

au niveau nutritionnel:

DIGESTIBILITE
BESOINS ENERG. SATISFAITS
BESOINS NUTRIT. SATISFAITS

Figure 2.43: Critères de sélection pour les sources de nourriture larvaires (LEGER et *al.*, 1978, cité par VERRETH, 1991).

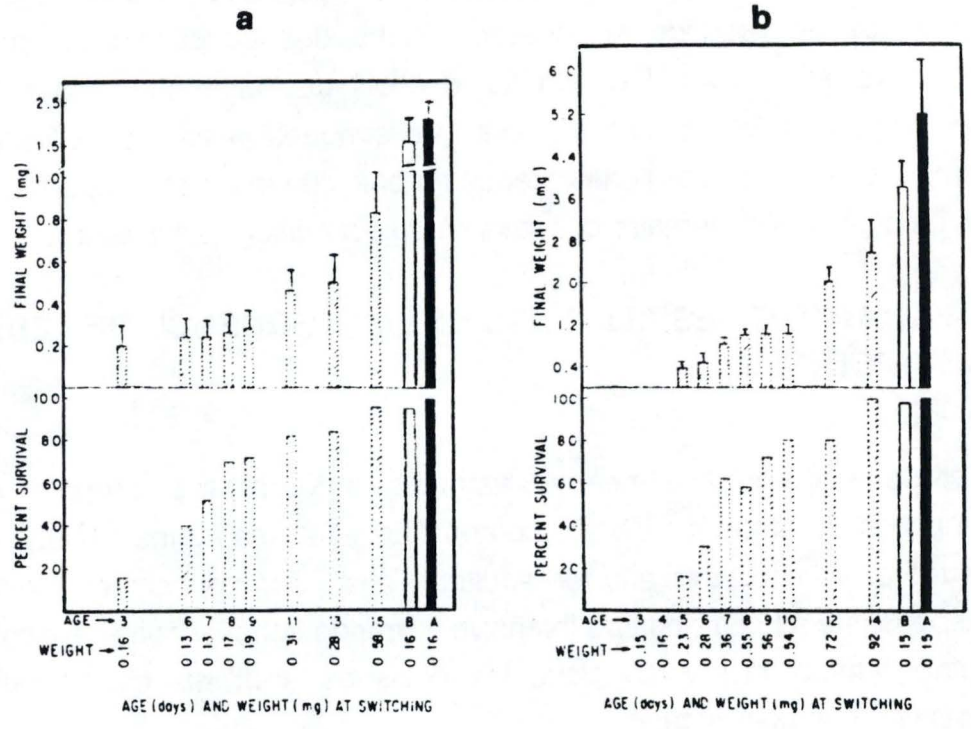


Figure 2.44 : Survie et croissance de larves de *Labeo rohita* (a) et de *Heteropneustes fossilis* (b) sevrées à l'aliment artificiel à différents âges, comparées à des contrôles A et B. Selon MOOKERJI et RAO (1991).

Les qualités qui sont résumées dans la Fig. 2.43 contribuent à sa sélection, si elles sont présentes, et déterminent aussi la quantité à distribuer. Cette dernière dépend également de la température de l'eau et des besoins des larves.

Par exemple, quand on nourrit des larves à la fois avec des nauplii d'*Artemia* et de l'aliment sec, les larves ingèrent de plus grandes quantités d'*Artemia* mais sont plus vite rassasiées avec l'aliment artificiel, du fait de la faible teneur en eau de ce dernier (WEINHART, 1992).

Il est conseillé de distribuer souvent des petites quantités de nourriture pour plusieurs raisons. Cette précaution permet, à chaque intervalle de temps de nourrissage, aux larves d'ingérer le maximum de particules et ainsi de ne pas polluer l'eau d'élevage. Cela permet aussi aux larves de trouver de la nourriture en permanence puisqu'elles sont habituées à un nombre limité de repas et qu'elles ont mémorisé le lieu de largage des particules alimentaires. Enfin, cette méthode permet de réduire la variabilité de la consommation en oxygène des larves ainsi que leur taux d'excrétion d'ammonium (NH_4). La plupart de ces informations ont été obtenues par YAGER et SUMMERFELT (1993).

6.4. LE MOMENT ADEQUAT DU SEVRAGE

Celui-ci s'exprime en poids moyen (= adaptation weight), en taille moyenne des larves ou parfois en nombre de jours suivant l'éclosion. C'est le moment idéal, c'est-à-dire celui qui entraîne les meilleures survie et croissance des larves, pour commencer à distribuer de l'aliment artificiel en éliminant progressivement la part des proies vivantes (Fig. 2.44 a et b pour un exemple d'expérience dont le but est de déterminer ce poids moyen). Parfois, il se situe dans la période pendant laquelle la larve épuise son stock vitellin et commence à se nourrir de nourriture exogène (mixed feeding period, selon KAMLER, 1992). Chez le saumon alpin, on enregistre la plus faible mortalité lorsque le sevrage est réalisé 34 jours après l'éclosion, quand la vésicule vitteline est résorbée à moitié (WALLACE et alii, 1988).

Plus souvent, ce moment coïncide avec celui où l'estomac et la pepsine sont fonctionnels. Cela ne se passe parfois qu'à la métamorphose, chez les larves de poissons marins. En fait, il correspond à un "switch" de la digestion exclusivement intestinale à la digestion plutôt et d'abord stomacale, sauf chez les poissons agastres (DABROWSKI, 1992). Mais même si l'on a trouvé cet instant, l'aliment

artificiel peut encore engendrer des retards de croissance, des anomalies squelettiques ou des perturbations de la physiologie digestive, chez les larves, par la suite (PERSON-LE-RUYET et alii, 1989).

Chez le goujon, le moment adéquat pour passer à 100% d'aliment artificiel se situe après 3 semaines de régime mixte (50% *Artemia*/50% artificiel), vers 69 mg (MELARD et KESTEMONT,1993). Chez le bar rayé, ce serait entre le 14ème et le 21ème jour suivant l'éclosion (KERBY, 1972). Pour la perchaude, il se situerait à un poids moyen compris entre 20 et 200 mg et à une taille comprise entre 13 et 25 mm (HEIDINGER et KAYES, 1986; DABROWSKI et CULVER, 1991 et DABROWSKI, 1994) mais cet intervalle est à clarifier. Le moment du sevrage est en réalité fortement dépendant de l'espèce et des conditions d'élevage.

Cela montre bien qu'à l'éclosion, les larves ne peuvent accepter (comme aliment) que leur vitellus et que, peu de jours après, il leur faut un aliment vivant; en pisciculture, des rotifères ou des nauplii d'*Artemia* (souche de petite taille).

6.5. COMMENT EVALUER LA QUALITE D'UN ALIMENT ARTIFICIEL?

Un premier moyen consiste à tester si les performances zootechniques des larves nourries avec cet aliment sont proches de celles obtenues avec l'aliment naturel. Si ce n'est pas le cas, il faut chercher: où sont les particules dans la colonne d'eau, les capacités d'ingestion de la larve et la présence d'aliments dans le tube digestif. Une fois qu'on est sûr que les particules sont ingérées, on peut estimer la digestion et l'assimilation de l'aliment par des méthodes biochimiques, via des dosages d'enzymes protéolyltiques ou des méthodes histologiques utilisant des composés fluorescents ou radioactifs (BENGSTON, 1991).

Cette dernière méthode est utilisée dans la technique du nourrissage forcé (= force-feeding) qui a pour but de déterminer l'efficacité de l'assimilation des nutriments, en micro-injectant divers aliments dans le tube digestif des larves. Son inconvénient est de demander beaucoup de temps si les échantillons sont nombreux, et d'être dépendant de l'expérience de l'observateur. Les aliments peuvent être rendus radio-actifs si l'on veut, par exemple, trouver les sites d'absorption des tractus digestif. Cette technique a l'avantage d'éliminer les différences d'acceptation des aliments par les larves, ainsi que les effets du lessivage des particules. Elle permet en fait des investigations beaucoup plus directes (RUST et alii, 1993).

6.6. UTILISATION DES ACTIVITES PROTEOLYTIQUES POUR TESTER UN ALIMENT

Outre l'analyse du taux de croissance et du taux de mortalité des larves élevées avec un type d'aliment, il est possible d'estimer son efficacité en dosant les activités des enzymes protéolytiques dans les tubes digestifs. L'activité de ces enzymes est un bon indicateur de la croissance larvaire, car les protéines sont la composante diététique majeure chez les larves (ÜEBERSCHÄR, 1988).

De ce fait, les enzymes dosés sont la pepsine gastrique, surtout pour les carnivores, la trypsine et la chymotrypsine intestinale. Parmi celles-ci, la trypsine mérite beaucoup d'attention, car elle est la seule protéase du pancréas qui peut activer son propre zymogène et ceux des autres protéases pancréatiques, et car elle est présente chez les jeunes larves. Elle est donc l'enzyme adéquate à doser pour étudier les capacités digestives des larves (ÜEBERSCHÄR, 1988).

Il existe trois grands types de techniques utilisés pour ces dosages. Un type utilise des substrats spécifiques qui sont chromogènes lors de leur contact avec ces enzymes dans des conditions adéquates. L'activité des enzymes est estimée via la mesure de l'absorbance des solutions, après un certain protocole, par un spectrophotomètre (DABROWSKI, 1994). Le deuxième type de technique emploie des anticorps "A" dirigés contre l'enzyme (ou son zymogène) en question. L'activité enzymatique est décelée grâce à la révélation d'anticorps "B" anti "A". Cette méthode détecte de plus petites doses d'enzyme, mais elle semble plus difficile à réaliser et nécessite des anticorps n'engendrant pas de réaction croisée. La troisième méthode utilise des substrats fluorescents qui, hydrolysés, voient leur fluorescence s'élever et devenir plus détectable par un spectrofluorimètre.

Dans notre étude, seule la première méthode sera utilisée. En tous cas, il faut toujours faire attention à ce que l'on dose: l'activité enzymatique dans le tube digestif ou la même activité dans le poisson entier. Malgré l'efficacité de ces techniques, l'interprétation des résultats est parfois difficile, car les avis des différents spécialistes à propos des effets de certains états physiologiques sur les activités protéolytiques ne sont pas unanimes Cependant, cela est souvent lié aux espèces de poissons elles-mêmes et, connaissant des résultats (et les méthodes utilisées pour les obtenir) et les explications avancées grâce à l'étude d'espèces similaires à celle que l'on étudie, au même stade de développement, on peut proposer de bonnes hypothèses.

6.7. DESCRIPTION BREVE DE TECHNIQUES DE DOSAGE DES ACTIVITES ENZYMATIQUES

En ce qui concerne la trypsique et la chymotrypsine, d'autres techniques de dosage que celle que nous avons employée utilisent, soit d'autres substrats synthétiques chromogènes, soit des méthodes fluorimétriques ou immunologiques décrites précédemment. Les techniques les plus spécifiques sont celles utilisant des anticorps mais elles coûtent plus cher. Dans tous les cas, l'interprétation des résultats dépend surtout de quoi est composé l'homogénat contenant les enzymes (tubes digestifs ou larves entières, contenus intestinaux ou tubes digestifs remplis).

Pour doser la pepsine, il existe en réalité deux types de techniques: celui utilisant de l'hémoglobine (dose plus généralement les protéases acides) et celui employant des substrats synthétiques (souvent des peptides). Dans le cas de substrats protéiques, il existe trois méthodes particulières: une utilisant une portéine radio-iodée (sensibilité du dosage multipliée par 250), une travaillant avec une globine N,N-diméthylée et mesurant les liens peptidiques hydrolysés par la réaction des groupes aminés libérés avec du sulphonate de trinitrobenzène, et une, plus sensible, employant de la fluorescamine pour détecter les groupes aminés libérés, qui est d'une grande sensibilité. Dans le cas de substrats synthétiques, les méthodes les plus utilisées sont la réaction avec la ninhydrine, celle avec la fluorescamine, la spectrophotométrie en absorption directe et la fluorimétrie. De tels substrats fournissent des moyens extrêmement sensibles pour détecter les enzymes adéquats, surtout lorsqu'ils sont couplés à la fluorimétrie.

Cependant, comme les protéases acides sont assez hétérogènes et qu'il y a peu de connaissances concernant leurs spécificités de substrat ainsi que leurs activateurs et inhibiteurs, il est difficile de dire très exactement ce que l'on dose (RYLE, 1988).

III. MATERIEL ET METHODES

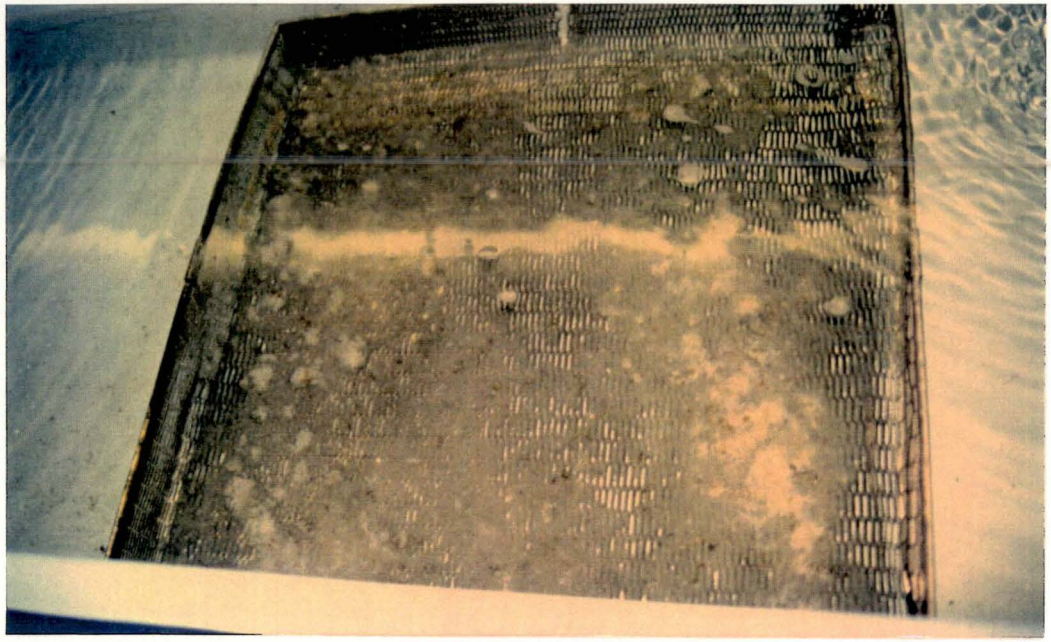


Figure 3.1: Claie d'incubation horizontale contenant un ruban d'oeufs

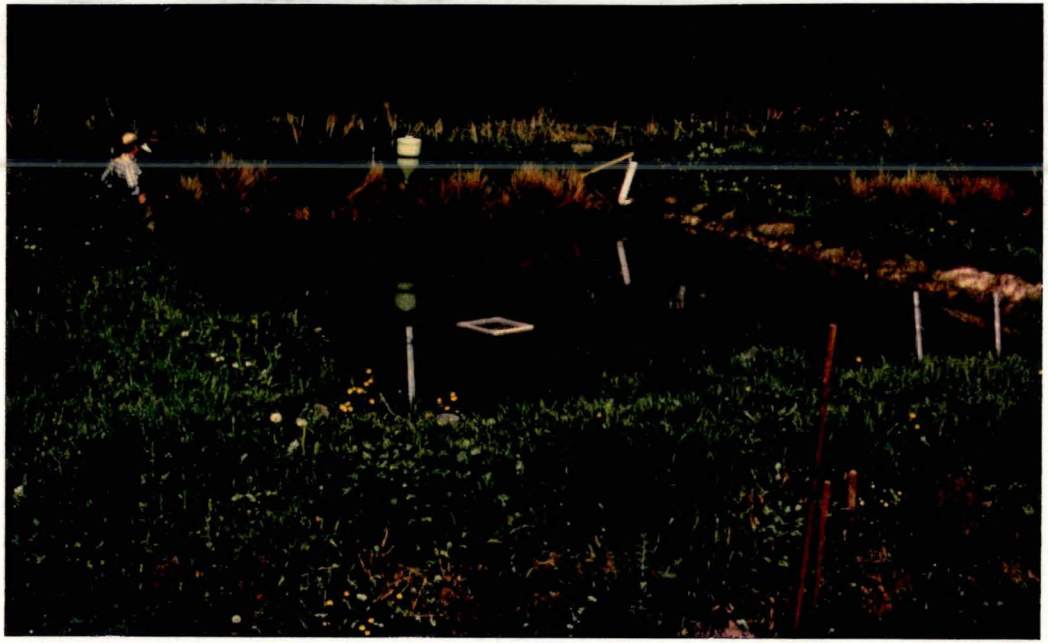


Figure 3.2: Etang de 110 m^2 contenant une cage flottante.

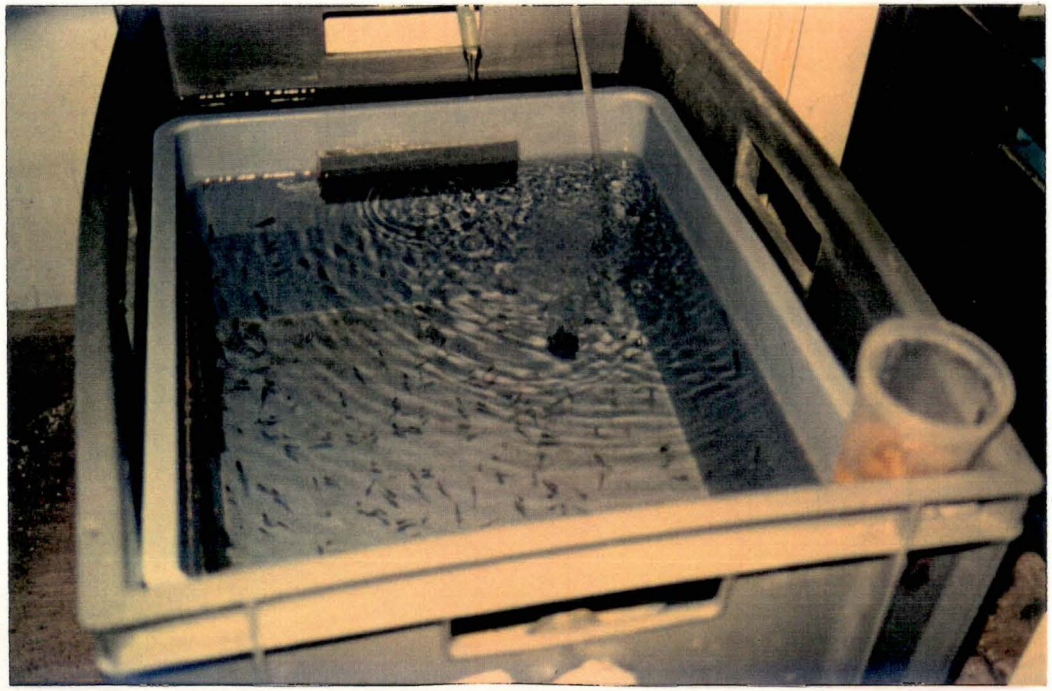


Figure 3.4: Bassin d'élevage du niveau supérieur contenant des larves

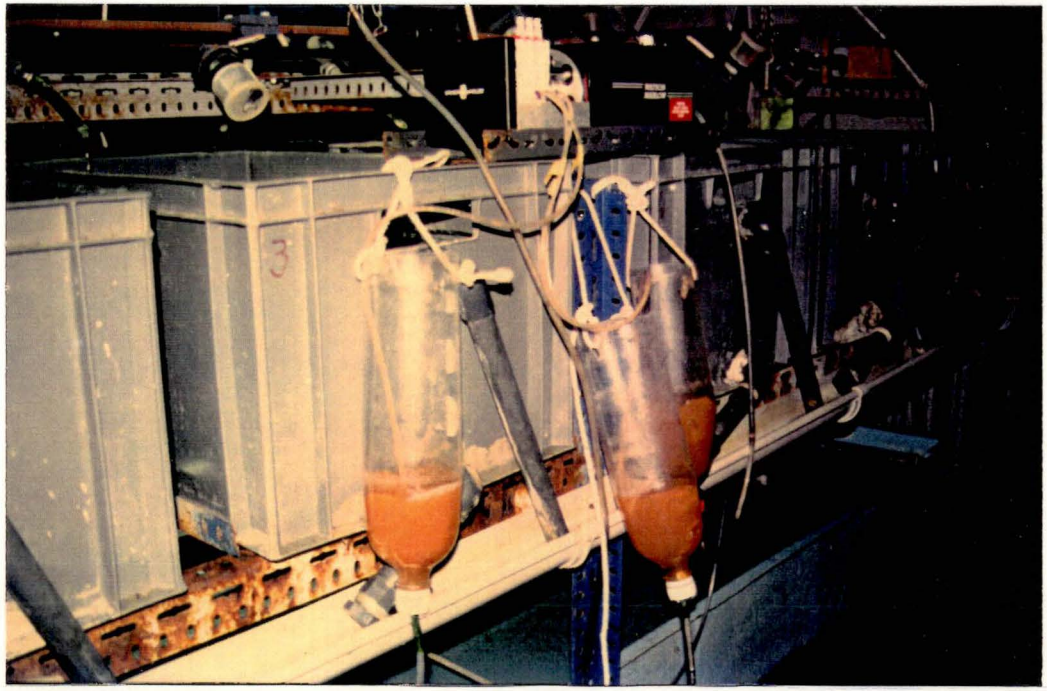


Figure 3.3: Unité opérationnelle de l'installation expérimentale d'Haugimont

III. MATERIEL ET METHODES

1. MOYENS EXPERIMENTAUX

1.1. ORIGINE DES LARVES

Les larves de *perche* (*Perca fluviatilis*) de nos expériences proviennent d'une reproduction naturelle en bassin de 2 m^3, à la station de pisciculture expérimentale de l'UN.EC.E.D., à Haugimont. Les géniteurs sont pêchés dans le milieu naturel (Haute Meuse, à hauteur de la noue de Tailfer) et stockés dans des bassins de reproduction, à une température de 10 à 13°C, dans une serre, au cours du mois d'avril 1994. Ces bassins sont équipés de branchages de conifère de manière à stimuler la ponte spontanée des femelles et afin d'éviter aux oeufs de tomber au fond du bassin où il y a sédimentation des déchets.

Dès l'observation des pontes, les œufs sont transférés soit à la station expérimentale de Tihange (C.E.R.E.R. Aquaculture, ULg), dans des sacs en polyéthylène, où ils sont incubés à 17°C sur claies horizontales, pendant 8 jours, jusqu'à la veille de l'éclosion, moment auquel ils sont ramenés à Haugimont, soit directement incubés sur de mêmes claies, à 10-13°C, pendant 11 jours.

En conditions intensives, les oeufs sont placés environ un jour avant l'éclosion dans des claies (0,4 x 0,4 x 0,07 m) immergées dans les bassins rectangulaires de 170 litres de 2 des unités expérimentales de la station (Fig. 3.1). Les œufs y éclosent et les larves sont nourries avec des nauplii d'*Artemia* (souche de petite taille, ±430 µm) dès le 2ème ou le 3ème jour suivant l'éclosion, puis avec des nauplii d'*Artemia* (souche de taille normale, ±500 µm), avant d'être transférées vers des bassins d'élevage de 25 litres.

En conditions extensives, les oeufs sont installés à l'état embryonné dans des cages flottantes de 0,16 m^2 (Fig. 3.3) munies de mailles de 1,5 mm permettant le passage aisé des larves tout en retenant les œufs non éclos.

1.2. ELEVAGE LARVAIRE EN CONDITIONS EXTENSIVES

Cet élément consiste en une larviculture semi-extensive de *perche* (*Perca fluviatilis*) en étangs fertilisés.

1.2.1. DESCRIPTION DES ETANGS

Ces étangs de 110 m^2 orientés nord/sud (Fig. 3.2) sont au nombre de trois et sont pourvus chacun d'un moine inclinable, pour la vidange, et d'une pêcherie. Les étangs 1, 2 et 3 ont été mis en charge le 2 mai 1994 avec, respectivement, 20.000, 100.000 et 10.000 oeufs embryonnés.

1.2.2. FERTILISATION MINERALE

Son but est d'augmenter la production naturelle de zooplancton (via des blooms phytoplanctoniques) de l'étang. Ainsi, les larves de *perche* pourront s'y alimenter avec une nourriture plus diversifiée que lors de l'élevage intensif. Elle a évidemment lieu avant le déversement des oeufs embryonnés.

Ainsi, après dosage des teneurs en $N\text{-}NH_4^+$ et $P\text{-}PO_4^{3-}$, les 3 étangs reçoivent une première fertilisation minérale sous forme d'engrais 35 % superphosphate (20g/étang) et 27,5 % sulfate d'ammoniac (1 kg/étang), de façon à amener la concentration en P et en N à, respectivement, 30 µg/l et 600 µg/l. Les concentrations sont vérifiées tous les 2 à 3 jours et un apport de fertilisants est réalisé à chaque fois que celles-ci descendent fortement ou que la concentration en chlorophylle a montre une grande augmentation.

1.2.3. SUIVI DES PARAMETRES ABIOTIQUES ET BIOTIQUES

Les paramètres suivis tous les 2 à 3 jours sont : le pH (avec un pH-mètre WTW E56), la température de l'eau, l'oxygène dissout (avec un oxymètre Ysi modèle 58), les concentrations en NH_4^+ et en PO_4^{3-} (par spectrophotométrie) et la concentration en chlorophylle a (méthode de PECHAZ, 1987).

Nous suivons aussi, hebdomadairement, la concentration en zooplancton (par prélèvement tous les 3 jours de 20 litres d'eau par étang et filtration sur filtre de 0,45 µm GFC) et la qualité du zooplancton (par stockage dans du formol 4 % et

par un comptage ultérieur des différentes formes du zooplancton). Toutes ces mesures sont effectuées vers 11 heures, parallèlement, par E.D. FIOGBE, dans le cadre de son doctorat. En ce qui concerne les larves de *perche*, les croissances en poids et en longueur (prélèvement de 5 larves, hebdomadairement) et les enzymes digestifs des larves (5 larves prélevées chaque semaine) sont suivis.

1.3. ELEVAGE LARVAIRE EN CONDITIONS SEMI-INTENSIVES

Ces conditions sont intermédiaires entre les cas d'élevage extensif et intensif. Il s'agit d'élever les larves dans des bassins-bâches de 10 m^2 (4 m^3) dont le fond est bâché. Ils sont situés à l'extérieur, à la température de 23 ± 2°C (régulation via un sytème d'échangeur thermique fonctionnant avec de l'eau chaude de la centrale nucléaire), sont aérés par un aérateur à disque et sont recouverts d'une bâche afin de réduire l'intensité lumineuse et d'éviter la prolifération d'algues filamenteuses. Durant les premiers jours qui suivent l'éclosion, les larves se nourrissent de phytoplancton et de rotifères qui se sont développés grâce à une fertilisation organique unique (1,5 kg de fumier bovin par bassin), une semaine avant le déversement des oeufs embryonnés.

Environ 20000 larves réparties dans 2 bassins-bâches sont très progressivement (7 jours avec 30 % d'aliments artificiels, puis7 jours à 40 %, 5 à 50 %, 4 à 65 % et 10 à 85 %) sevrées avec de l'aliment artificiel (Nippon shrimp feed, Seabream 1, 2 et 3, de granulométrie croissante en fonction de la taille des poissons) vers le 7ème jour après l'éclosion. Les nauplii d'*Artemia* (souche de petite taillle durant les 6 premiers jours après l'éclosion et souche normale par la suite) sont distribués manuellement 4 fois par jour, au niveau du nourrisseur à tapis servant à nourrir les larves avec de l'aliment artificiel. Lors du sevrage et encore par la suite, ce nourrisseur étale la distribution journalière sur 12 heures. Cette expérience est réalisée à Tihange et fait partie d'une étude menée par l'ULg.

Lors de cet élevage, les mêmes paramètres abiotiques et mesures concernant le plancton que dans l'élevage précédent sont suivis 2 fois par semaine, pendant environ 1,5 mois. Quant aux mesures effectuées sur les larves de *perche*, elles sont enregistrées tous les 5 à 11 jours et sont du même type que celles enregistées lors de l'élevage en conditions extensives.

1.4. ELEVAGE LARVAIRE EN CONDITIONS INTENSIVES

1.4.1. DISPOSITIF DU SYSTEME EXPERIMENTAL

Ce dispositif est formé de trois unités autonomes pouvant fonctionner en circuit fermé ou en circuit semi-ouvert par apport d'eau de distribution pré-aérée. Chaque unité opérationnelle est constituée de trois compartiments : élevage, décantation et filtration (Fig. 3.3), à 3 niveaux (ABI-AYAD, 1991).

Le niveau supérieur (Fig. 3.4) est constitué de 6 ou 7 bassins d'expérimentation de 25 litres, celui du milieu d'un bassin de sédimentation et l'inférieur, d'un bassin de biofiltration. Les bassins d'expérimentation spéciaux ont été adaptés selon ceux du système INRA destinés à l'élevage de petites larves de poisson et décrits par CHARLON et BERGOT (1984). Chaque bassin d'expérimentation (0,5 X 0,35 X 0,35 m) contient un bassin interne (0,4 X 0,3 X 0,3 m) contenant les larves et percé de fenêtres latérales recouvertes de toile ablutée (mailles de 250 à 1000 μm selon la taille des larves) et est équipé d'un système d'aération dont le débit est réglable et adapté selon l'âge des larves, ainsi que d'un distributeur automatique d'aliments artificiels. Les rôles des bassins externes sont de maintenir un niveau d'eau suffisant et de permettre le nettoyage (par enlèvement puis lavage) des bassins internes sans trop perturber le fonctionnement du système. Le débit d'eau dans chaque unité est similaire et constant (0,9l/min).

Les bassins de sédimentation et ceux de biofiltration sont rectangulaires (2,74 X 0,45 X 0,23 m) et ont un volume utile de 170 litres. Les seconds sont) remplis de graviers calcaires (=tampon alcalin) et d'un mélange de billes d'argex (pour avoir une grande surface de substrat) sur lesquels se développent des bactéries nitrifiantes. Avant de retourner dans les bassins d'expérimentation, l'eau est filtrée mécaniquement (=ultrafiltration) grâce à une toile à mailles fines et à du charbon actif retenant les microparticules, puis est traitée avec une lampe U.V. germicide. Dans les bassins de biofiltration se trouvent des résistances thermiques qui maintiennent une température constante dans chaque unité.

1.4.2. DISPOSITIF DE NOURRISSAGE POUR *ARTEMIA* ET ALIMENTS ARTIFICIELS

1.4.2.1. Pour les *Artemia*

Ces crustacés, après avoir été récupérés, sont mélangés avec de l'eau plus ou moins salée (plus ou moins 24 cl d'eau pour 2 g d'*Artemia*). Lorsque les jeunes larves sont encore dans les bassins de décantation (ayant parfois servi à l'incubation des oeufs), cette solution est versée dans des récipients (Fig. 3.8) dans lesquels plongent des fins tuyaux flexibles reliés à une pompe péristaltique. Cette dernière en dispense 16 ml par heure aux larves. Quand les larves ont été transférées dans des bassins d'expérimentation, elles y sont notamment nourries d'*Artemia*, manuellement, 4 fois par jour.

1.4.2.2. Pour les aliments artificiels

Ceux-ci sont distribués par un système de nourrissage inspiré du système rotatoire de MacFARLANE (1976, cité par CHARLON et BERGOT, 1984) réadapté aux impératifs de l'élevage larvaire expérimental. Ce système est formé de 2 unités séparables: le distributeur d'aliment et le système de support (ABI-AYAD, 1991). Ce système permet de distribuer 720 fois par jour de très fins granules d'aliments (si jeunes larves) à de petits groupes de larves (CHARLON et BERGOT, 1986) à des intervalles de temps fréquents (15 minutes par heure d'éclairement, de 6 à 22 heures)

L'avantage de ce système est d'éviter les pertes d'aliment et de distribuer beaucoup d'aliments tout en préservant une trop rapide pollution de l'eau.

1.4.3. PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX

1.4.3.1. Rappel du but de ces recherches

L'intérêt principal de cette étude est de déterminer le poids moyen des larves de perche (*Perca fluviatilis*) adéquat à leur sevrage sur un aliment artificiel. Il fait l'objet de la première de nos expérience. Ce poids étant aussi dépendant de l'aliment utilisé et de la manière dont le sevrage a été réalisé, nous avons imaginé deux autres expériences complémentaires pour étudier l'effet de ces deux facteurs.

Tableau III.1.: Composition des régimes alimentaires distribués aux larves de perche durant la période expérimentale.

Poids (mg)	Témoin	Transfert 7 mg	Transfert 13 mg	Transfert 18 mg	Transfert 56 mg	Transfert 112 mg
1,5	*Artemia*	*Artemia*	*Artemia*	*Artemia*	*Artemia*	*Artemia*
7	*Artemia*	Lansy A2	*Artemia*	*Artemia*	*Artemia*	*Artemia*
13	*Artemia*	Lansy A2	Lansy A2	*Artemia*	*Artemia*	*Artemia*
18	*Artemia*	Lansy A2	Lansy A2	Lansy A2	*Artemia*	*Artemia*
56	*Artemia*	Lansy W3	Lansy W3	Lansy W3	Lansy W3	*Artemia*
112	*Artemia*	Lansy W3	Lansy W3	Lansy W3	Lansy W3	Lansy W3
500	*Artemia*	Lansy W3	Lansy W3	Lansy W3	Lansy W3	Lansy W3

Tableau III.2:

%age d'aliments artificiels dans la ration	Sevrage de 11 jours	Sevrage de 21 jours	Sevrage de 24 jours
50	6 jours	11 jours	15 jours
75	2 jours	5 jours	6 jours
90	3 jours	5 jours	3 jours
100	15 jours	8 jours	1 jour

Tableau III.3.: Précision à propos des paramètres abiotiques suivis.

Paramètre suivi	Valeur considérée comme optimum	Appareil utilisé pour les mesures
Température	21 °C	Thermomètre à mercure (précision= ±0,2 °C)
pH	8	pHmètre "microprocessor" WTW type E56
Oxygène dissout	7 mg/l	Oxymètre pHOX 62 TE
Concentration en NO_2	inférieur à 0,5 mg/l	Spectrophotomètre
Concentration en NH_3	inférieur à 0,2 mg/l	Spectrophotomètre

En plus de suivre les performances zootechniques des larves, nous avons examiné l'évolution des activités des enzymes digestifs durant l'ontogenèse des larves sachant que ceux-ci déterminent fortement la capacité des larves à digérer efficacement un aliment.

1.4.3.2.Description precise de chaque experience

a. Expérience de détermination du meilleur moment pour le sevrage

Les larves de cette expérience (durée=27 jours) proviennent d'une même ponte qui a éclos dans un bassin rectangulaire de 170 litres. Plusieurs séries de 500 larves (250 X 2 bacs comme réplicat) ont été transférées du bassin de 170 litres vers 2 bacs de 25 litres, au hasard, à des poids moyens différents, soit à une densité de 10 larves/litre. Une fois dans les bacs d'élevage et après un jour d'adaptation où elles sont mises à jeun, les larves sont sevrées progessivement avec un aliment artificiel: LANSY A2 (composition: voir annexe III.1) si les larves ont un poids inférieur à 20 mg et LANSY W3 si elles sont plus grosses) en 4 jours (un jour avec 25 % d'aliment artificiel, un jour à 50 % et un à 75 %, puis toujours 100 % LANSY), selon le protocole illustré au tableau III.1.

Cette expérience est accompagnée d'un élevage larvaire en conditions extensives dans un étang de 110 m^2, avec 10000 larves (=standard) ainsi que d'un élevage en conditions semi-intensives, en bassins-bâches de 10 m^2, avec une densité similaire Cela est réalisé dans le but de comparer les performances zootechniques et les paramètres biochimiques de larves de *perche* dans des conditions de plus en plus intensives.

Les aliments sont distribués à raison de 50, 25 et 20 % de la biomasse pour des larves dont le poids est inférieur à, respectivement, 10, 20 et 500 mg. Ce sera aussi le cas pour les autres expériences.

b. Expérience testant l'effet d'un sevrage de plus en plus progressif

Son but est de vérifier, en 30 jours, de quelle manière la qualité de l'aliment peut influencer la croissance et l'activité digestive des larves, sans avoir de biais engendrés par la nature de l'aliment. Elle permettra aussi de tester si un sevrage de plus en plus progessif a un effet sur l'acceptabilité précoce d'un aliment artificiel (Seabream: voir composition dans l'annexe III.2). Ainsi, des larves de 10,7 mg seront sevrées selon 3 protocoles différents expliqués dans le tableau III.2.

Au cours de ces trois expériences, les *Artemia* sont distribués par pompe péristaltique dans le grand bac de 150 litres ou manuellement (3 à 4 fois par jour) dans les bacs d'élevage. Les aliments artificiels sont, eux, dispensés par un nourrisseur automatique décrit précédemment.

c. Expérience pour tester l'effet du type d'aliment

Dans cette expérience de 22 jours, nous avons voulu tester l'effet de deux aliments artificiels différents sur les paramètres zootechniques et biochimiques des larves de *perche*. Des larves de 4,3 mg ont été prélevées d'un grand bac rectangulaire pour être placées dans 3 X 2 bacs de 25 litres, à une densité de 500 larves/bac (= 20 larves/litre). Le sevrage a commencé le lendemain du transfert et plus progressivement que lors de l'expérience 1, c'est à dire, en débutant avec 7 jours à 25 % d'aliments artificiels (LANSY A2 ou W3, ou Seabream 1 ou 3 selon les lots) suivis de 8 jours à 50 % et d'un jour à 75 % d'aliments artificiels. Il faut noter que les aliments artificiels LANSY A2 et S.B.1 ont une granulométrie plus fine que les aliments LANSY W3 et S.B.3.. Deux lots dupliqués de larves sevrées sont accompagnés d'un lot témoin dupliqué de larves élevées constamment sur *Artemia salina*.

1.4.5. PARAMETRES SUIVIS ET ENTRETIEN DU SYSTEME

1.4.5.1. Paramètres suivis

Ce sont: la température de l'eau, son pH, ses concentrations en oxygène,en nitrites et en ammonium. Dans le tableau III.2 est décrit comment ces paramètres sont mesurés et quelles sont les valeurs que l'on a essayé de garder constantes dans nos expériences. Ces paramètres sont mesurés chaque semaine, pour une série, au niveau du bac d'élevage le plus en amont, ou plus souvent, si un problème apparaît.

Une à deux fois par semaine, selon les expériences, 10 larves sont prélevées pour les mesures de croissance et d'activité enzymatique.

1.4.5.2. Entretien du système

Au cours de l'élevage, les bassins internes d'élevage sont siphonés tous les jours ou enlevés et nettoyés complètement puis remis en place, quand ils sont trop encrassés. Lors de ces opérations, les larves mortes sont comptées, enregistrées et enlevées des bassins. Les fenêtres grillagées sont désencroûtées

quotidiennement pour éviter que le niveau d'eau s'élève de trop (car l'évacuation normale d'eau est alors interrompue) et provoque un débordement pouvant entraîner la fuite et la perte de larves. Les filtres mécaniques subissent aussi ce nettoyage.

1.4.6. CONTROLE DE LA POPULATION DE LARVES

1.4.6.1. Survie et cannibalisme

Connaissant le nombre de larves mortes chaque jour dans chaque bassin d'élevage, ainsi que le nombre de larves de départ, au début de l'expérience, on peut calculer le nombre de survivants apparent par bassin et par jour, et les survies apparente et réelle en %, selon les formules:

$$\text{SURVIE REELLE} = \frac{Ns}{Ni} \times 100 \quad \text{et} \quad \text{SURVIE APPARENTE} = \frac{Ni - Nm}{Ni} \times 100$$

avec: *Ni* = Nombre initial de larves

Ns = Nombre de larves survivantes en fin d'élevage

Nm = Nombre de larves mortes (siphonées)

Le cannibalisme (en %) est estimé selon cette formule:

CANNIBALISME = SURVIE APPARENTE - SURVIE REELLE

Si l'on a prélevé des larves volontairement dans un bassin (pour la mesure du poids, de la longueur, pour les dosages enzymatiques ou parce qu'elles étaient devenues trop grandes et cannibales) et qu'elles n'y sont pas remises après, le nombre de ces larves prélevées est à ajouter au nombre de larves survivantes en fin d'expérience dans la formule de la survie réelle.

1.4.6.2. Croissance en poids et en longueur et taux de croissance spécifique

Durant chaque expérience, un relevé de longueur et de poids, sur une dizaine de larves, par type de traitement ou par bassin, est effectué hebdomadairement et en même temps que des prélèvements pour des dosages utlérieurs ont lieu. Les moyennes de ces mesures, par relevé, permettent de suivre l'évolution de la croissance des larves.

Les pesées exprimées en mg sont réalisées à l'aide d'une balance électronique (METTLER AE 260 Delta Range) précise au dixième de mg près. Les mesures de longueur sont exprimées en mm et ont été effectuées sous un binoculaire, en posant les larves sur une lame porte-objet équipée d'une graduation précise au dixième de mm près, quand elles ont moins de 25 mm, ou sur du papier millimétré quand elles sont plus grandes. Ces données vont servir à calculer le taux de croissance spécifique individuel (= Specific Growth Rate ou S.G.R.) en %/jour selon la formule:

$$S.G.R. = \frac{ln\ W2 - ln\ W1}{T} \times 100$$ où :

W2 = poids moyen (mg) des poissons en fin d'expérience
W1 = poids moyen (mg) des poissons en début d'expérience
T = période d'élevage (jours)

Nous calculerons aussi le S.G.R. à partir des biomasses initiale et finale (au lieu des poids moyens), car celui-ci intègre la mortalité des larves, au contraire du précédent. Ce "$S.G.R._{biom}$" reflète donc la performance "réelle" du lot de larves.

1.4.6.3. Taux de conversion alimentaire

Ce taux (=T.C.A.) est le rapport de la quantité de nourriture distribuée à la biomasse de poisson produite pendant un temps déterminé :

$$T.C.A. = \frac{nourriture\ sèche\ distribuée\ (g)}{gain\ de\ poids\ vif\ (g)} \times 100$$

1.4.6.3 Cœfficient d'efficacité protéique

Le cœfficient d'efficacité protéique (C.E.P.) exprime la biomasse de poissons produits (g) par unité de poids (g) de protéines de la ration alimentaire:

$$C.\ E.\ P. = \frac{(W2 - W1)}{A\ X\ P_A}$$ où :

(W2 - W1) = accroissement en poids vif (g) réalisé par le poisson dans l'intervalle de tems (t_2-t_1)

A = quantité de l'aliment sec distribué durant ce même intervalle de temps (g)

P_A = teneur protéique de l'aliment sec (%)

1.5. ANALYSES BIOCHIMIQUES

1.5.1.PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR LES DOSAGES

Précisons d'abord que les analyses des activités trypsique et chymotrypsique ont été réalisées dans trois unités: celle de l'UN.EC.E.D. (Professeur J.C. MICHA), pour les microdissections et les homogénéisations, celle de Biologie Quantitative (Professeur E. FEYTMANS) pour les centrifugations et celle de Physiologie et biochimie comparée (Professeur P. DEVOS) pour les dosages proprement dits. Celles-ci se trouvent aux Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix, à Namur.

Durant la phase expérimentale, les larves qui serviront aux dosages sont transportées vivantes jusqu'à Namur et sont stockées immédiatement à - 80°C dans un congélateur de type REVCO (model 6100 liquid $C0_2$ control assembly) pour éviter toute dénaturation des enzymes. Les prélèvements ont lieu entre 15 et 60 minutes après un repas et sont congelés entre 30 et 120 minutes après un repas.

Par après, lors d'une microdissection sous binoculaire et sur glace, les tubes digestifs des larves sont homogénéisés individuellement ou par 2 (pour les petites larves) dans un broyeur Potter (constitué d'un piston strié en PTFE monté sur une foreuse de type AEG sbe 500 rt, tournant dans un mortier de 5 ml en verre borosilicaté) en utilisant 2, 3 ou 4 ml (selon la grosseur des larves) de tampon adapté à l'enzyme dosé, à froid.

Juste après, les homogénats sont centrifugés à 13 000 tours par minute (= 20.000 g), à 4°C, pendant 20 minutes dans des tubes en polypropylène de 16 ml et dans une centrifugeuse (SORVALL RC 5B refrigerated superspeed) équipée d'un rotor SM 24. Les surnageants sont alors récupérés et peuvent servir aux dosages proprement dits, par après, si on les conserve à - 80°C. Ils sont alors répartis chacun dans 3 éppendorfs. Lors des dosages proprement dits, l'activité enzymatique sera calculée à partir d'une droite étalon établie avec de l'enzyme pure.

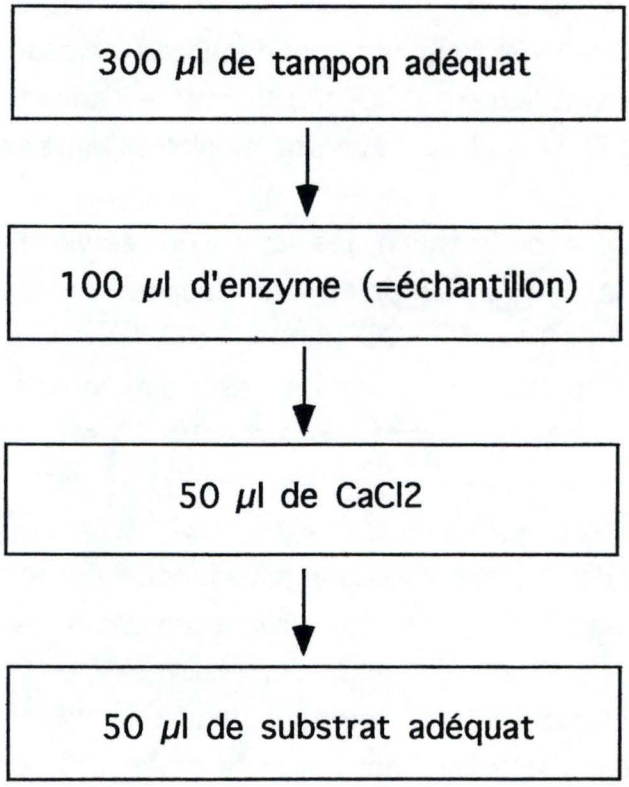


Figure 3.5: Séquence selon laquelle il faut ajouter les produits dans la cuvette.

1.5.2. DOSAGES DE LA TRYPSINE ET DE LA CHYMOTRYPSINE

Le substrat utilisé est chromogène et est obtenu en solution selon le protocole suivant (d'après DABROWSKI, 1994):

- 5,01 mmôles de Na Benzoyl DL Arginine P Nitroanilide (BAPA) pour la trypsine, ou 5,10 mmôles de N Glutaryl Phenylalanine P Nitroanilide (GPNA) pour la chymotrypsine sont dissoutes dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) et stockées dans des tubes à essai emballés dans du papier aluminium pour les protéger de la lumière, à température ambiante.

- Juste avant les mesures d'absorbance, on mélange 0,5 ml d'une des 2 solutions précédentes avec 10 ml de tampon Tris HCl à pH 8,5. On place alors tous les produits à utiliser dans un bain glacé.

- Ensuite, on ajoute successivement dans une cuvette de 1 ml 4 produits selon la séquence indiquée à la Fig. 3.5 Après un rapide mélange on peut réaliser la lecture de l'absorbance des échantillons (en duplicat), à 385 nm, par un spectrophotomètre de type BECKMAN DU 640, à 25°C, pendant 5 minutes, à une fréquence de 20 secondes.

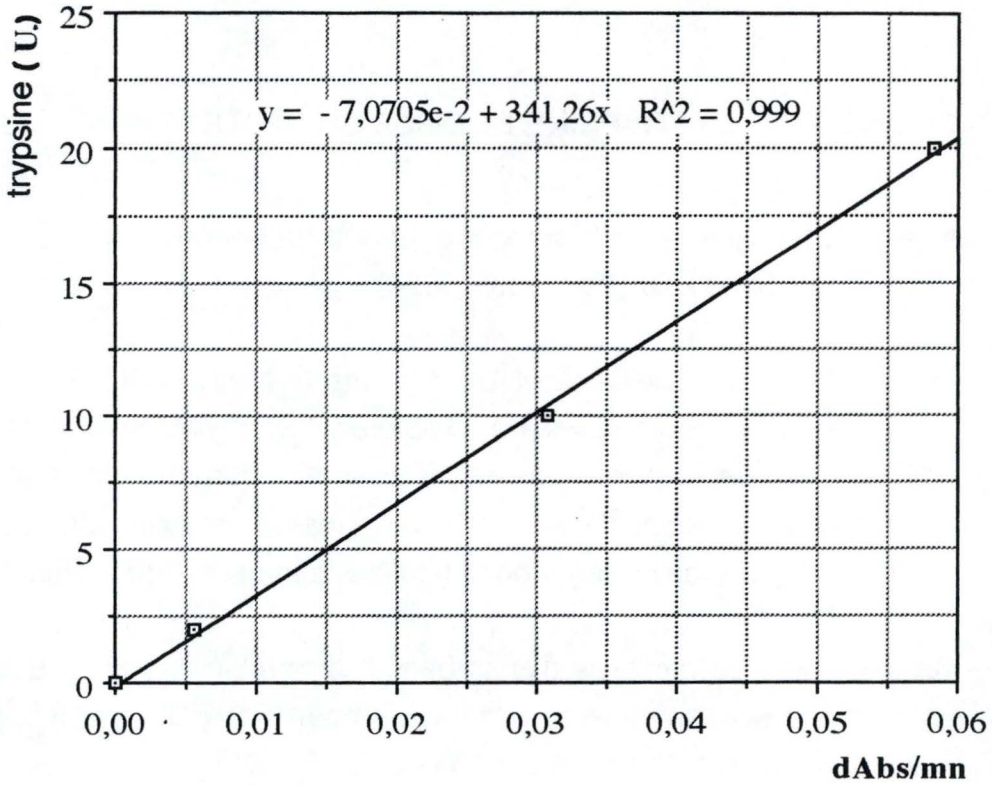
Du $CaCl_2$ a été ajouté pour éviter la formation d'agrégats inertes de trypsine ou de chymotrypsine, grâce aux ions Ca^{2+}. De plus, les ions Ca^{2+} favorisent les clivages des liaisons peptidiques. Le principe de l'utilisation de ces substrats consiste en la libération d'une substance colorée décelable par spectrophotométrie (la nitroanilide) lors de la réaction enzyme-substrat spécifique. L'activité trypsique ou chymotrypsique est finalement calculée via une courbe étalon (Fig. 3.6 a et b).

Les produits utilisés proviennent des laboratoires SIGMA CHEMICAL CO. et sont stockés à -20°C ou à température ambiante, selon leur nature (comme c'est le cas pour ceux utilisés pour le dosage de la pepsine).

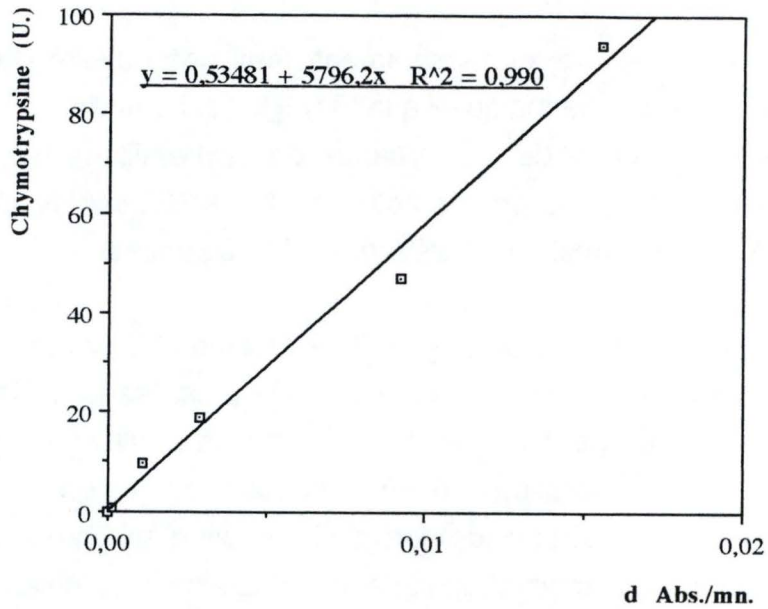
1.5.3. DOSAGE DE LA PEPSINE

Le tampon utilisé est du tampon Glycine à pH 2,5 et le substrat est de l'hémoglobine de porc. L'activité pepsique est estimée via l'absorbance dans l'U.V. des produits de l'hydrolyse pepsique du substrat (dénaturé au pH des dosages)

A



B



C

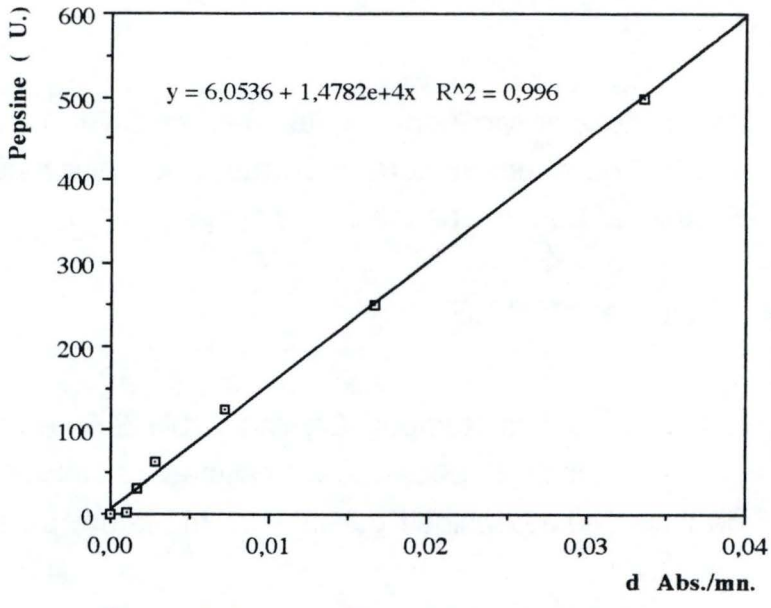


Figure 3.6: Droite d'étalonnage:
A: pour la trypsine.
B: pour la chymotrypsine.
C: pour la pepsine.

qui sont solubles dans une solution d'acide trichloroacétique (= TCA). Cette solution acide a aussi la capacité d'arrêter la réaction enzymatique, car son pH est tel qu'il fait précipiter les protéines (hémoglobine et protéases) du mélange.

Cette technique fut imaginée par ANSON (1938, cité par RYLE, 1985). L'estimation des produits d'hydrolyse dépendait initialement de l'utilisation du réactif de Folin-Ciocalteau mais elle fut modifiée pour pouvoir utiliser à la place l'absorbance des produits d'hydrolyse dans les U.V. .

Voici la procédure précise des dosages :

1) 1,35 ml d'hémoglobine sont versés dans des tubes en polypropylène pour centrifugeuse

2) ajout de 0,15 ml de l'échantillon (= enzyme)

3) incubation du mélange à 25°C pendant 30 minutes

4) arrêt des réactions enzymatiques par ajout de 3 ml de TCA 4 %

5) centrifugation à 13.000 tours/minute (= 20.000g) pendant 20 minutes

6) mesure ponctuelle de l'absorbance à 280 nm du surnageant (= Abs. A si 2) puis 3) ou Abs. P si 4) puis 2)), dans un spectrophotomètre de type LKB ultrospec IIE, dans une cuvette de 1 ml en quartz.
7) calcul du d abs/min (= (Abs.A - Abs.P) / 30), puis de l'activité grâce à une droite d'étalonnage (réalisée avant les dosages d'une série dans les mêmes conditions, avec de la pepsine pure, cf. Fig. 3.6 c).

Dans le calcul du d abs/min, il faut soustraire l'Abs.P, car elle correspond à l'absorbance de peptides provenant de l'échantillon ou de l'autolyse de la pepsine.

1.5.4. LIMITES DES TECHNIQUES

Dans le cas des dosages des enzymes pancréatiques, un problème des techniques est que les substrats synthétiques utilisés réagissent parfois aussi avec des enzymes de type trypsine ou de type chymotrypsine (comme la cathepsine), ce qui réduit leur spécificité originelle. On n'est donc pas toujours sûr de ne mesurer que l'activité catalytique de la trypsine ou de la chymotrypsine

(GEIGER, 1985). Le cœfficient de variation des dosages est estimé à 2-5 % (n = 20). Quant à la limite de détection des dosages, elle est d'environ 0,5 µg de trypsine/chymotrypsine par dosage (DABROWSKI, 1994).

En ce qui concerne le dosage de l'activité pepsique, la technique a comme inconvénient d'utiliser un substrat qui n'est pas vraiment spécifique de la pepsine. En effet, il peut aussi être hydrolysé par d'autres proéases actives à pH bas (RYLE, 1985). Le cœfficient de variation pour la pepsine est de 0,05 % avec cette technique. La sensibilité est alors comprise entre 6 et 123 [Pepsin Units]^{Hb}/l pour le jus gastrique humain.

1.6. Analyses statistiques

Grâce à la duplication des bassins d'élevage, il nous est possible de tester l'effet de ces bassins en même temps que l'effet dont l'expérience fait l'objet, en réalisant des ANOVA 2 (modèles hiérarchisés mixtes dont le facteur fixe est le sujet de l'expérience, et le facteur aléatoire, le bassin) quand les variances des populations sont homogènes (sinon, transformation logarithmique des variables). Les analyses effectuées ne seront pas exhaustives dans le but de ne pas apporter des informations redondantes ou facultatives. En effet, elles concerneront les biomasses finales (synthétisant les effets de la survie et de la croissance) et les activités des enzymes digestifs, en fin d'expérience (quand l'aliment est d'un seul type et non plus mixte, dans le cas de sevrages). De plus, si cela s'avère nécessaire, un ou des contrastes seront effectués.

IV RESULTATS

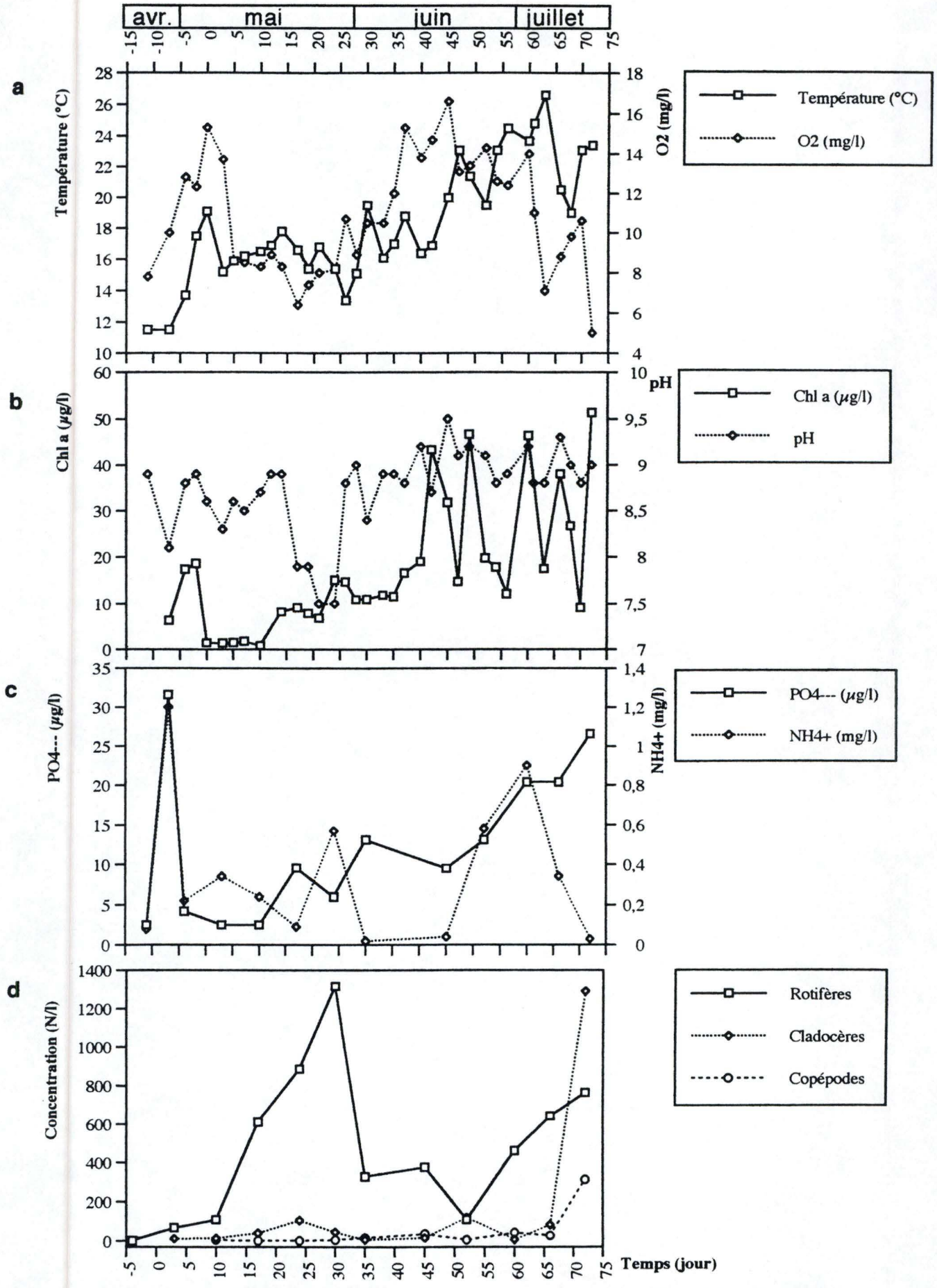


Figure 4.1: Evolution des paramètres physico-chimiques et des concentrations en chlorophylle a et en zooplancton en fonction du temps calculé à partir de la la mise en charge (t=0) avec en:

a: la température et la concentration en oxygène.

b: la concentration en chlorophylle a et le pH.

c: les concentrations en phosphates et en ammonium.

d: la concentration en zooplancton.

IV. RESULTATS

4.1. EXPERIENCE 1: RECHERCHE DU MOMENT ADÉQUAT AU SEVRAGE

4.1.1. EVOLUTION DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES ET DE FACTEURS ASSOCIES

4.1.1.1. Lors de l'élevage en conditions extensives

a. Les paramètres physico-chimiques

Ceux-ci n'ont pas été repris que pour l'étang 3 (avec 10.000 œufs) car c'est le seul étang dans lequel nous avons pu récolter des larves.

Grâce à la Fig. 4.1 a, nous remarquons que la température de l'eau a varié (moyenne = 18,2°C et écart type = 3,75°C) entre 11,5 et 23,5°C entre les premiers jours avant la mise en charge (19°C à ce moment) et la fin de l'expérience. Notons qu'une température inférieure à l'optimum thermique des perches (23°C) en début d'expérience ainsi que des fluctuations thermiques assez importantes peuvent réduire la croissance de ces larves par rapport à des larves élevées à température optimale (23°C) constante. Quant à la concentration en oxygène (moyenne = 10,8 mg/l; écart-type = 2,9 mg/l), elle évolue plus irrégulièrement, étant assez liée à la température de l'eau (Fig. 4.1 a) aux variations en chlorophylle a (Fig. 4.1 b) et à l'abondance du zooplancton (Fig. 4.1 d), ces facteurs intervenant simultanément mais de façons différentes. En effet, elle a chuté à 6 et à 7 mg/l au milieu des mois de mai et de juillet et a même atteint 5 mg/l à la fin de ce dernier mois. Cela est préoccupant, d'autant plus que ces valeurs ont été mesurées vers 11 heures et qu'en fin de nuit, elles peuvent encore diminuer très fort.

Le pH (Fig. 4.1 b) est assez stable et souvent élevé (moyenne = 8,7 et écart-type = 0,46). Il est généralement lié à la production primaire qui fait s'élever celui-ci. De ce fait, au cours de l'après-midi, il peut encore augmenter. Cependant, nous voyons qu'il chute entre le 15 et le 30ème jour après la mise en charge. En ce qui concerne la concentration en phosphates (Fig. 4.1 c), elle reflète les fertilisations minérales successives qui ont lieu à chaque pic en chlorophylle a. Malgré celles-ci, elle est, après le premier pic, toujours inférieure à 30 µg/l (moyenne = 12,5 µg/l

et écart-type = 9,7 $\mu g/l$), car le phytoplancton y puise abondamment du phosphore, un des éléments limitants de la production primaire. Pour ce qui est de la concentration en NH_4^+ (Fig. 4.1 c), ses variations (moyenne = 0,36 mg/l et écart-type = 0,26 mg/l) sont de plus grande amplitude.

b. La chlorophylle a et le zooplancton

L'évolution de la concentration en chlorophylle a est plus ou moins calquée sur celle de la concentration en PO_4^{3-} (Fig. 4.1 b), avec un petit décalage logique. Après 45 jours suivant la mise en charge, nous remarquons que l'amplitude des fluctuations augmente fortement, car les populations de cladocères et de copépodes qui augmentent plus fort à ce moment ont de plus en plus d'influence sur le phytoplancton.

En ce qui concerne le zooplancton (Fig. 4.1 d), les rotifères apparaissent vers le 5ème jour avant la mise en charge et ont 2 pics d'abondance, après 30 et 73 jours suivant la mise en charge. Quant aux cladocères, détectés 3 jours après la mise en charge, ils montrent aussi des pics, mais à 24, 52 et 72 jours après la mise en charge. Pour ce qui est des copépodes, ils ont été décelés 10 jours après la mise en charge et n'ont vraiment augmenté en nombre qu'après le 66ème jour.

4.1.1.2. Lors de l'élevage en conditions semi-intensives

Rappelons d'abord que ces mesures ont été effectuées par MARY (1994), dans le cadre de son mémoire, à l'ULg.

La température et la concentration en oxygène ont été maintenues constantes et ont varié autour de, respectivement, 22,6°C (± 0,14°C) et 8,55 mg/l (± 0,07 mg/l). Ces valeurs sont très proches des optima respectifs de 23°C et 8,5 mg/l, à 20°C (=concentration à la saturation). Quant aux concentrations moyennes en NH_3 et en NO_2^-, elles sont égales à, respectivement, 0,56 mg/l (± 0,06 mg/l) et 0,36 mg/l (± 0,03 mg/l), ce qui, soit dépasse, soit est proche des seuils de tolérance des poissons. Le pH est, lui, très stable, avoisinant la valeur alcaline de 8,3 (± 0,007). Pour ce qui est du zooplancton, la concentration en rotifères était de 200 individus par litre et proche de 0, respectivement, 2 et 5 jours après l'éclosion des larves de perche.

Tableau IV.1: Moyennes (et écarts-types) des valeurs des paramètres zootechniques lors de l'élevage intensif de l'expérience 1.

Param. zootechn.	Témoin	transfert 7 mg	transfert 13 mg	transfert 18 mg	transfert 56 mg	transfert 112 mg
Durée (j)	27	27	21	27	27	27
Nombre initial	250	250	250	250	250	250
Nombre final	89 (+/-10,2)	12,5^{b} (+/-3,5)	4^{b} (+/-1,4)	25^{b} (+/-3,5)	65^{b} (+/-3,5)	88^{a} (+/-19,1)
Survie appar (%)	72 (+/-8,7)	28,4^{b} (+/-2,5)	62,4^{b} (+/-1,13)	58,8^{b} (+/-3,5)	59,2^{b} (+/-3,4)	65,2^{a} (+/-1,1)
Survie réelle (%)	35,6 (+/-4,1)	5^{b} (+/-1,4)	1,6^{b} (+/-0,6)	10^{b} (+/-1,4)	26^{b} (+/-1,4)	35,2^{a} (+/-7,6)
Cannibal. (%.)	36,4 (+/-9,1)	23,4^{b} (+/-2,1)	60,8^{b} (+/-0,9)	48,8^{b} (+/-2,1)	33,2^{a} (+/-2,4)	30^{a} (+/-4,3)
Poids moyen initial (mg)	12,7 (+/-0,2)	6,8 (+/-2,6)	12,7 (+/-5,1)	12,7 (+/-5,1)	12,7 (+/-5,1)	12,7 (+/-5,1)
Poids avant transfert (mg)		6,8 (+/-2,6)	12,7 (+/-5,1)	17,9 (+/-0,3)	56,4 (+/-11,9)	112,3 (+/-19,5)
Poids 2 j. après fin transfert (mg)		5,4 (+/-1,8)	19,8 (+/-2,6)	33,4 (+/-13,1)	159,3 (+/-55,5)	211,6 (+/-126,8)
Poids moyen final (mg)	397,3 (+/-111,6)	39,7^{b} (+/-11,6)	60,0^{b} (+/-10)	79,6^{b} (+/-39,2)	166,6^{b} (+/-51,8)	229^{b} (+/-73,5)
Biomasse initiale (g)	3,175 (+/-0,05)	1,712 (+/-0,65)	3,175 (+/-0,05)	3,175 (+/-0,05)	3,175 (+/-0,05)	3,175
Biomasse finale (g)	35,33 (+/-10,1)	0,496^{b} (+/-0,14)	0,24^{b} (+/-0,04)	1,987^{b} (+/-0,83)	10,82^{b} (+/-2,53)	20,15^{b} (+/-6,47)
S.G.R.* ind. (%/j)	12,7	4,8	7,4	6,8	9,5	10,7
S.G.R.* bio.(%/j)	8,9	/	/	/	4,5	6,8
T.C.A.	1,6	/	/	/	6,8	3
C.E.P.	1,383	/	/	/	0,338	0,728

^{b}: valeur considérée comme non-égale au témoin par un contraste (après une ANOVA 1).
^{a}: valeur ne pouvant pas être considérée comme non-égale au témoin par un contraste.
S.G.R. ind.*: S.G.R. individuel calculé avec les poids moyens.
S.G.R. bio.*: S.G.R. calculé avec les biomasse moyennes.

ableau IV.2: Moyennes (et écarts-types) des valeurs des paramètres zootechniques lors des élevages extensif et semi-intensif, en étang et en bassins-bâches, servant de standards pour l'expérience 1.

roit d'élevage	Duree (j)	Nombre initial	Nombre final	Survie réelle (%)	Cannibalisme (%)	T.C.A.	S.G.R. biom(%/j)
Etang 3	85	10000	743	7,4	/	/ (2)	5,5
Bassin-bache	45	10000	/	22,7 (±2,3)	38,5	1,31	11,8

roit d'élevage	Poids moyen initial (mg)	Poids moyen final (mg)	Biomasse initiale (g)	Biomasse finale (g)	S.G.R. ind.(%/j)
Etang 3	1,1 (±0,1)	1648,1 (±361)	11 (1) (±1)	1219,85 (±268,2)	8,6
assin-bache	1,1 (±0,1)	654,5 (±64,3)	11 (±1)	2270,00	14,5

(1): basée sur un nombre d'oeufs initial.

(2): sous-estimé, car zooplancton pas pris en compte.

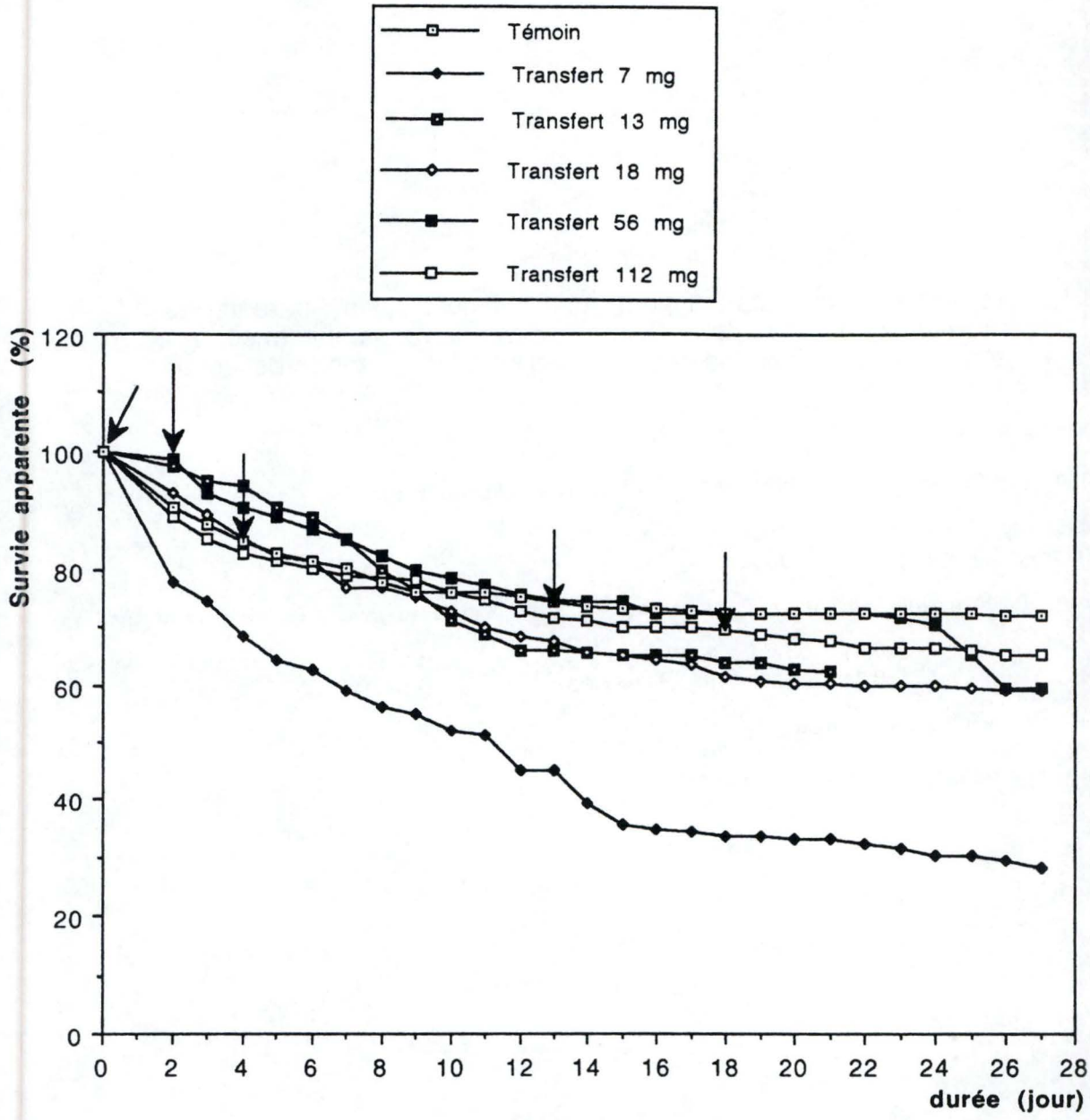


Figure 4.2: Evolution de la survie apparente avec la durée de l'expérience 1.

4.1.1.3.Lors de l'élevage en conditions intensives

La température du circuit fermé a été maintenue à 21,06°C (± 0,79°C) et le pH avait une valeur alcaline (7,9 ± 0,1). En ce qui concerne les concentrations en NO_2 et en O_2, elles ne furent pas les meilleures puisque leurs valeurs respectives étaient de 0,39 mg/l (± 0,08 mg/l) et de 6,8 mg/l (± 0,09 mg/l). La concentration en NH_3 resta, elle, assez faible (0,085 mg/l ± 0,005 mg/l), contrairement à celle enregistée dans l'élevage en bassins-bâches.

Face à l'élevage en étang, les conditions physico-chimiques semblent ici meilleures (sauf pour l'oxygène, et le NO_2 peut-être) De plus, les variations de ces facteurs sont de faible amplitude.

4.1.2. Evolution des critères zootechniques (Tableau IV.1 et IV. 2)

4.1.2.2. Survie des larves et cannibalisme

Lors de notre expérience, les taux de fécondation et les taux d'éclosion dans les claies avoisinaient les valeurs de 90 et de 60%, respectivement. Le poids moyen des oeufs était de 5,1; 5,5; 9,4 et 11,7 mg à, respectivement, 10, 24 et 34 heures après la fécondation, et 1 jour avant l'éclosion. Deux jours après l'éclosion, le taux de mortalité avoisinait 10%.

Si l'on rapporte les différentes survies réelles sur un même intervalle de temps (27 jours), on constate que la meilleure survie est enregistrée par le lot témoin élevé en conditions intensives. Ce lot est suivi par les lots sevrés à 56 et à 112 mg. Nous remarquons que ce sont les lots de larves sevrées à des poids moyens inférieurs à 56 mg qui montrent le moins bon résultat.

Lorsqu'on suit l'évolution de la survie apparente (Fig. 4.2) chez les lots produits en conditions intensives, on se rend compte que le passage d'un aliment naturel à un aliment artificiel n'est jamais suivi d'une chute brusque de la survie, sauf chez le lot sevré à 7 mg. Néanmoins, chez les larves sevrées à 56 mg, la survie chute 11 jours après le début du sevrage mais celui-ci n'en est apparemment pas la cause, car il s'est effectué de la même façon que pour les autres lots. Il ne faut pas oublier que cette survie ne reflète pas vraiment la réalité, car elle ne tient compte que de la mortalité calculée par décompte des poissons morts et ne considère pas le cannibalisme. La survie apparente a généralement

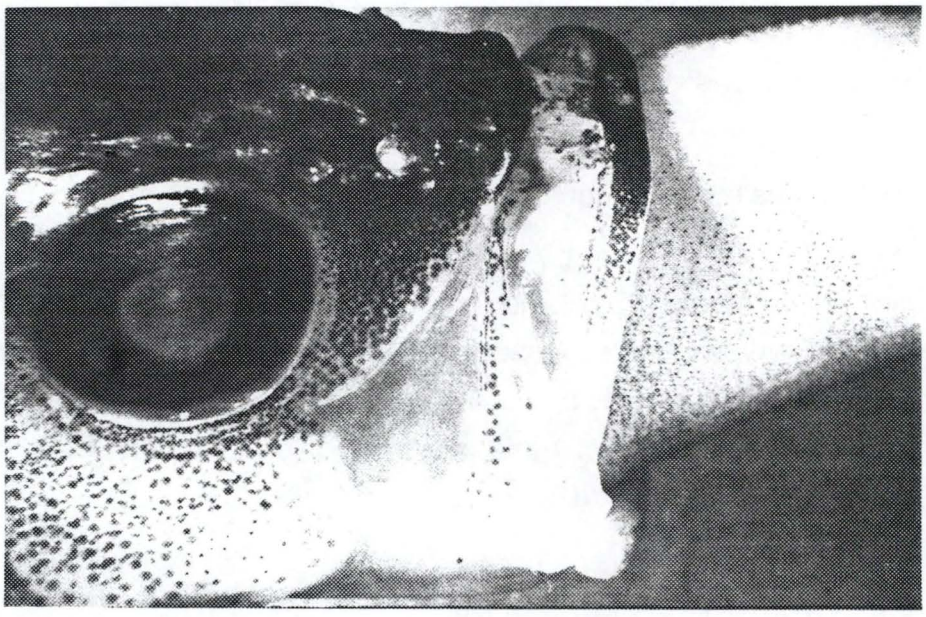


Photo d'une jeune perche présentant un acte de cannibalisme

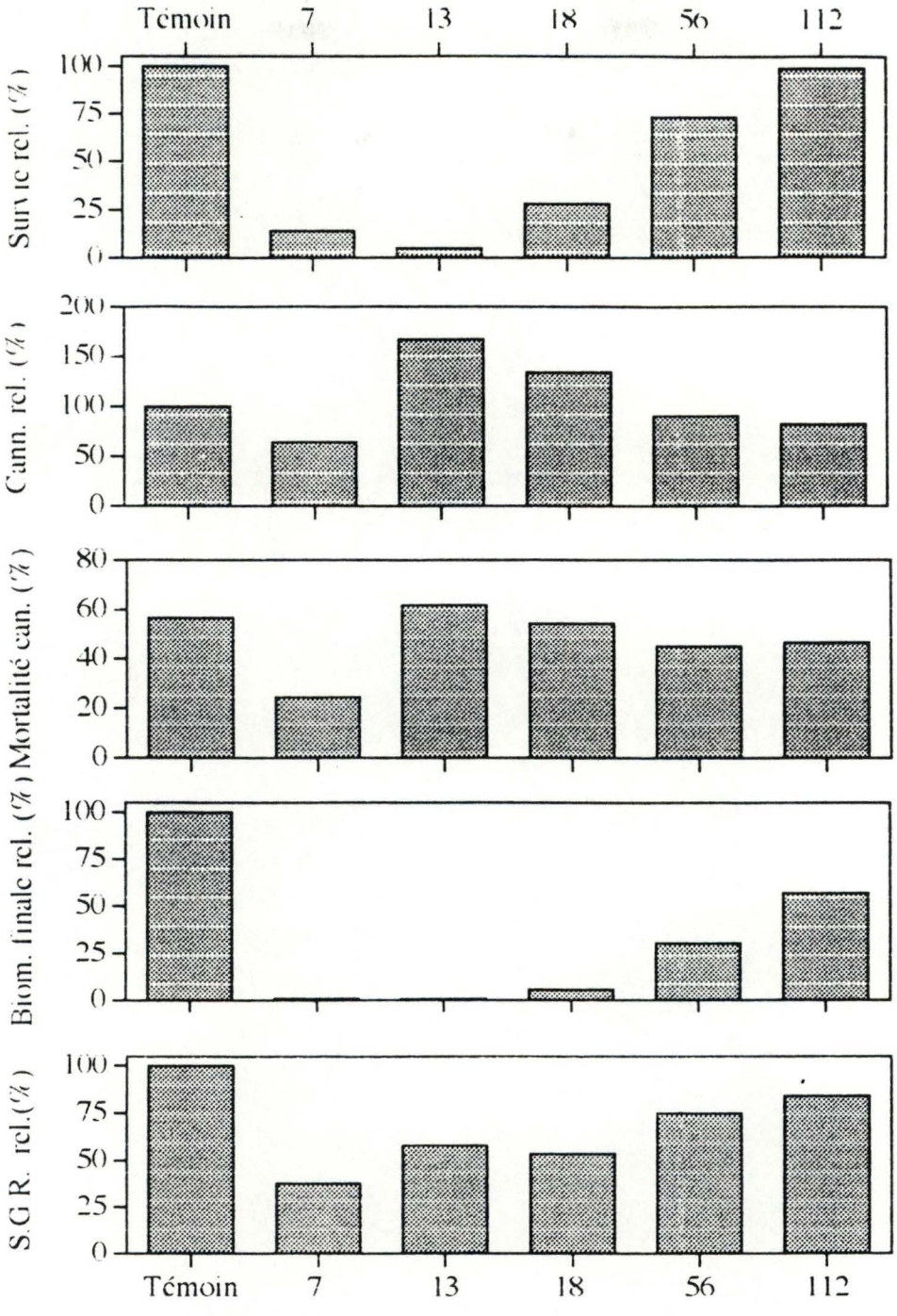
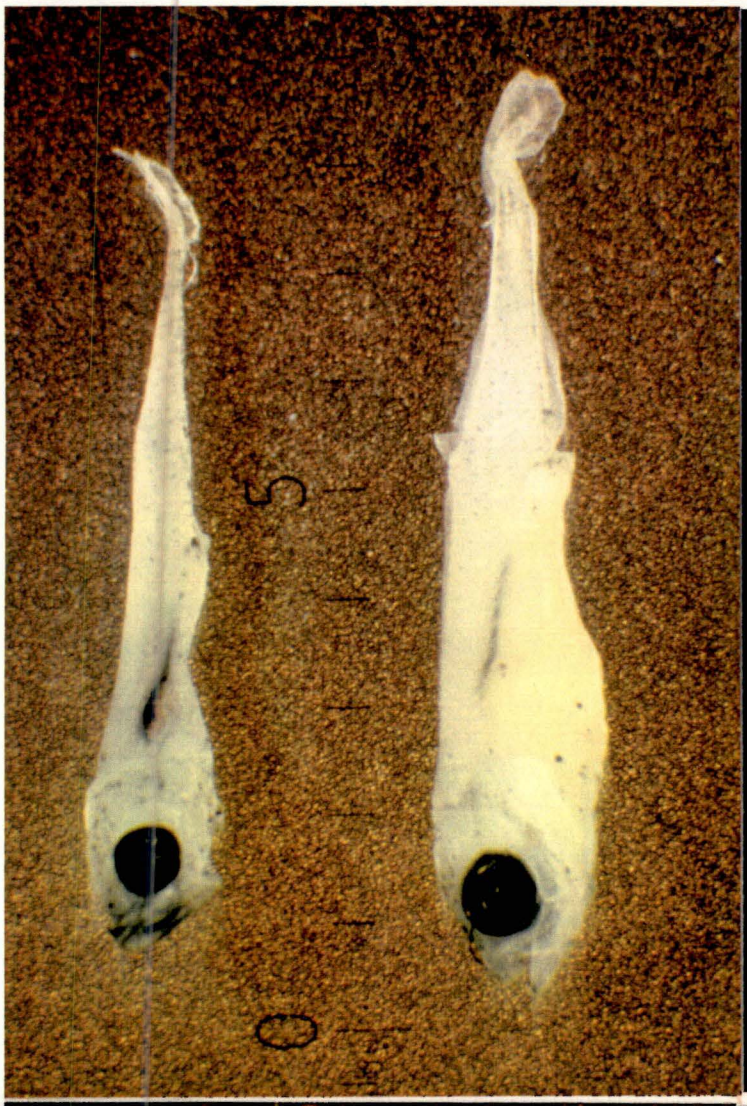
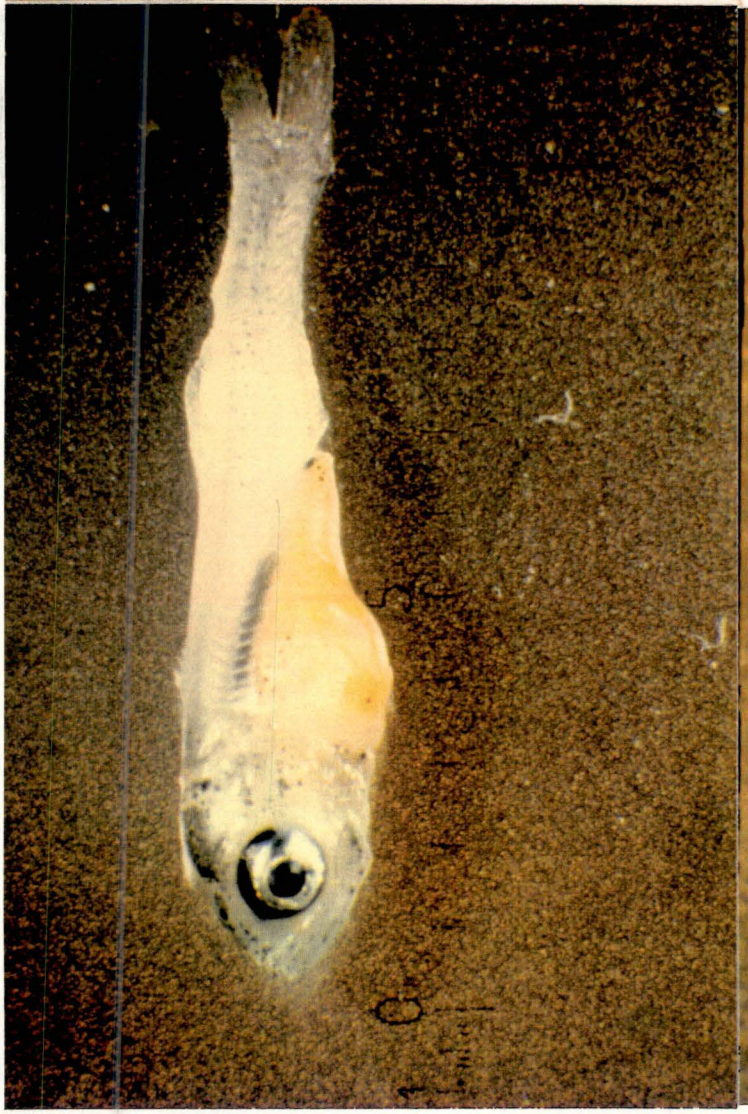
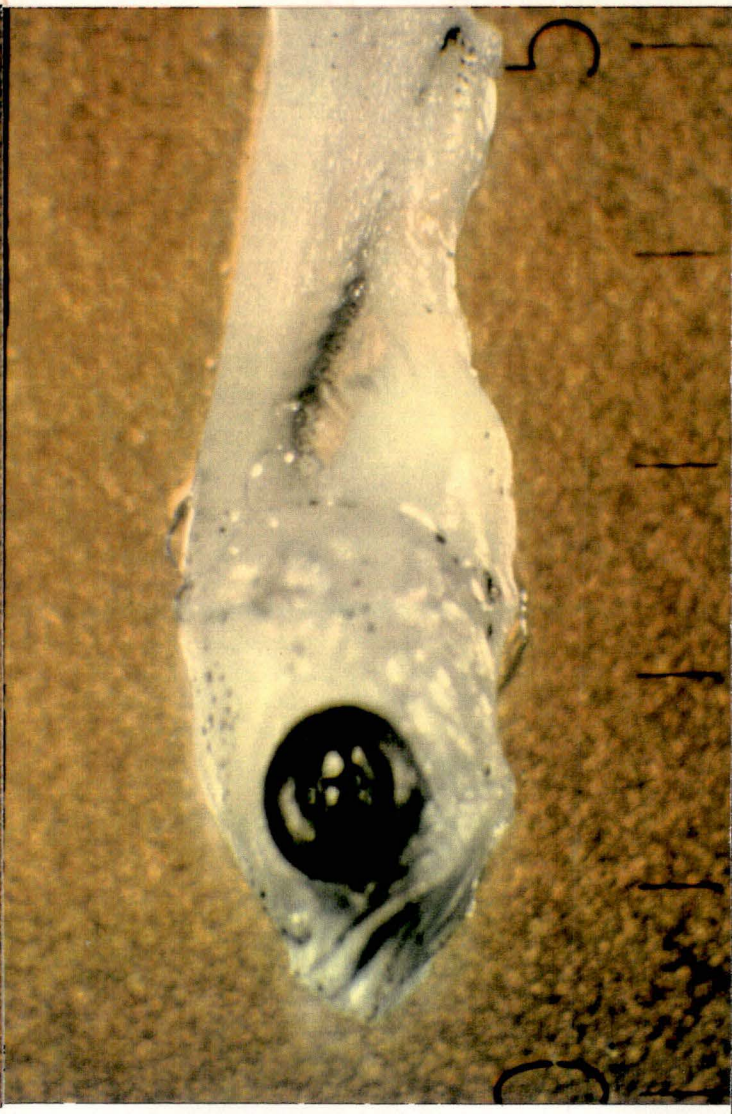


Figure 4.3: Valeurs relatives (par rapport au témoin valant arbitrairement 100%) de la survie réelle, du cannibalisme, de la "mortalité due au cannibalisme" (dans ce cas, pas par rapport au témoin), de la biomasse finale et du taux de croissance spécifique individuel.







tendance à diminuer assez lentement et régulièrement, sauf pour le lot de larves sevré à 7 mg. Ici, ce n'est pas dû principalement au cannibalisme mais à la non-acceptation de l'aliment artificiel. En effet, les larves de ce lot se nourrissant mal ont eu une croissance faible et lente; ainsi, les différences de poids et de taille ont dû être très faibles et le cannibalisme n'a presque pas pu se développer.

Notons qu'entre l'âge de 7 et de 22 jours, les larves de perche ont adopté un comportement spécial: elles restaient au fond des bassins et remontaient parfois vers la surface, puis se laissaient retomber au fond pour y rester presque inanimées. Ce comportement n'a pas provoqué de chute de la survie apparente (Fig. 4.2) et ne serait spécifique aux larves de perche, car il est aussi observé chez les larves de sandre (Cemagref, 1993). Il ne semble pas empêcher les larves de se nourrir, car, lorsque nous avons examiné ces larves au binoculaire (voir photos de jeunes perches, à différentes tailles + un exemple de cannibalisme), leurs tubes digestifs étaient progressivement remplis. Ce comportement n'a pas non plus provoqué de mauvais gonflement de la vessie natatoire.

En comparant la survie réelle, le cannibalisme et le rapport entre la mortalité due au cannibalisme et la mortalité totale (Fig. 4.3) dans l'élevage en conditions intensives, nous constatons que le cannibalisme relatif (comparé au lot témoin) est de plus en plus faible quand le sevrage est de plus en plus tardif, sauf dans le cas du lot sevré à 7 mg, mais cela a déjà été expliqué. Nous observons qu'il est assez élevé en général (supérieur au témoin pour les larves sevrées à 13 et à 18 mg) et que la mortalité qu'il explique (cfr. rapport cité précédemment) varie de 25 à 57 %. Cette dernière décroît généralement avec le poids au sevrage. Bien que la survie du lot témoin soit assez bonne, la mortalité expliquée par le cannibalisme est plus élevée, ce qui montre que l'aliment vivant n'est pas la cause majeure d'une diminution de la survie mais qu'il peut engendrer un cannibalisme assez important. Ainsi, chez les lots sevrés à 56 et à 112 mg, l'aliment artificiel semble provoquer une baisse de la survie qui n'est pas due au cannibalisme mais à l'aliment artificiel lui-même. En ne considérant que la survie, nous postulons que le sevrage doit s'effectuer à un poids des larves au moins égal à 112 mg, ce qui entraîne une survie réelle un peu inférieure à celle du lot témoin mais un cannibalisme plus faible (17,6% de moins).

A présent, grâce au tableau IV.2, voyons les performances zootechniques des larves qui furent élevées en étang et en bassins-bâches. Rappelons que ces résultats ne sont pas comparables (pour des questions de durée d'expérience, de type d'alimentation, de survie globale, de qualité des poissons récoltés,...) avec

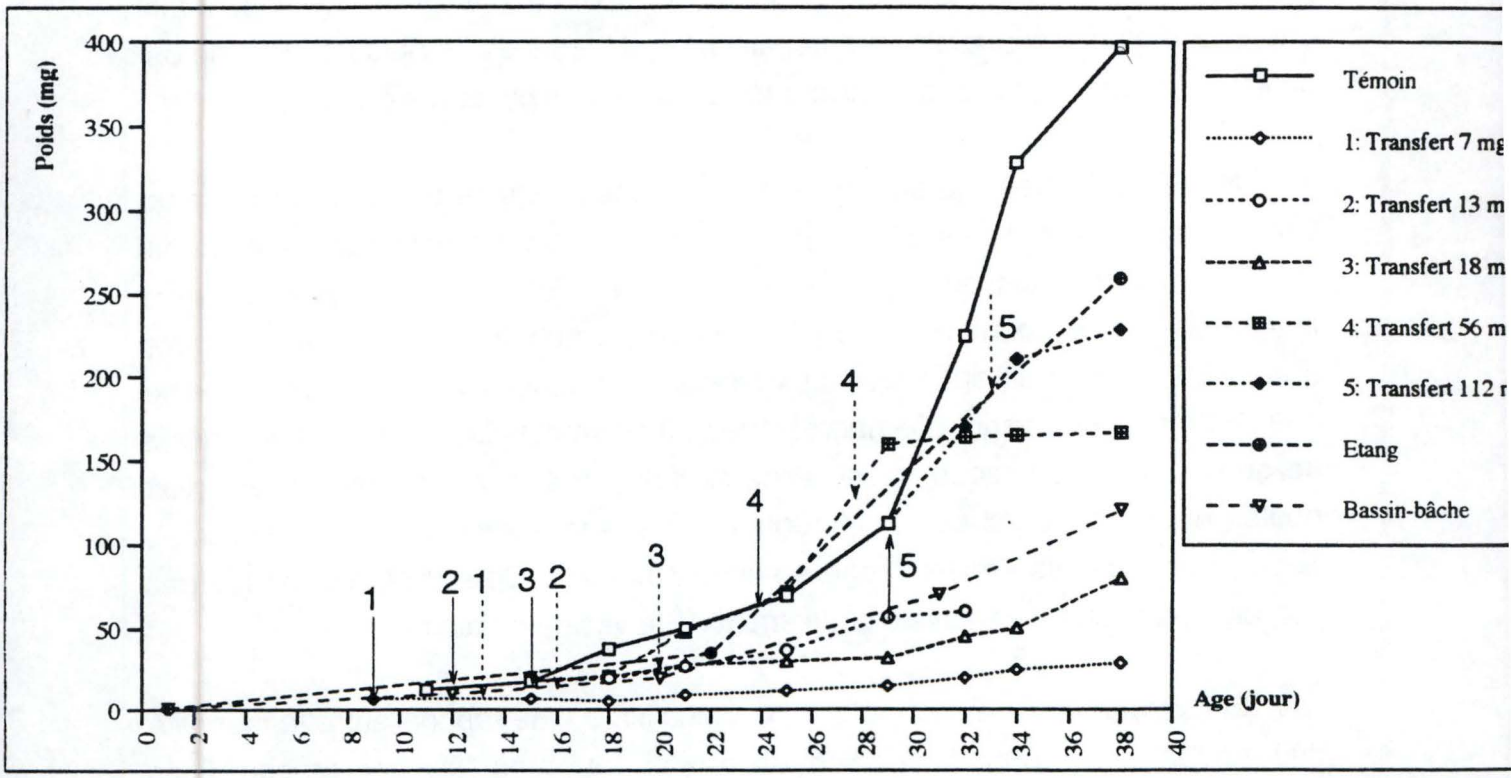


Figure 4.4: Evolution du poids corporel des larves élevées en conditons intensives, lors de l'expérience 1, et de celles de l'étang et des bassins-bâches (à titre indicatif) en fonction de leur âge.

Note: —> 1= début du sevrage lors du 1^{ier} transfert.
----> 1= fin du sevrage lors du 1^{ier} transfert.

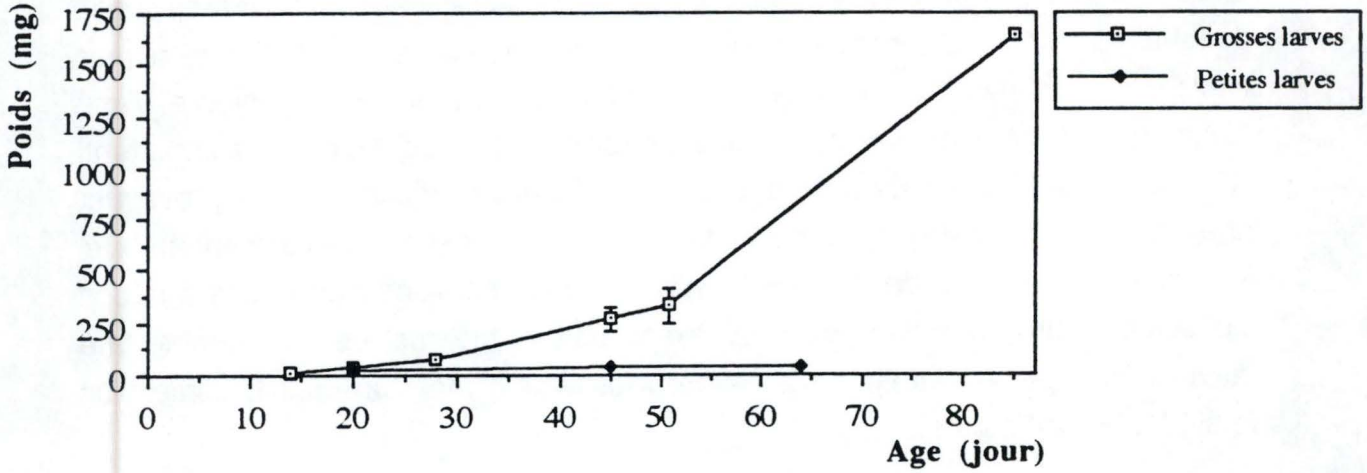


Figure 4.5: Evolution du poids des larves de l'étang en fonction de leur âge.

ceux obtenus lors de l'élevage en conditions intensives mais qu'ils sont là pour donner une signification à l'expérience 1. Ils ont en effet été obtenus dans des conditions semi-naturelles. Ainsi, nous remarquons que, dans les bassins-bâches, la survie réelle est très satisfaisante puisqu'elle est supérieure à celle des larves de l'étang (sur un intervalle de temps identique). Ce résultat paraît étonnant car, un apport d'aliments artificiels qui, chez les larves sevrées à des poids moyens inférieurs ou égaux à 112 mg, en conditions intensives, faisait diminuer la survie, a ici mené à une faible mortalité. Néanmoins, rappelons que, dans les bassins-bâches, les jeunes larves pouvaient se nourrir de zooplancton et que cela a pu limiter leur mortalité, à un stade précoce.

4.1.2.2. Performances de croissance des larves (tableau IV.1)

a. Croissance en poids et en biomasse

La Fig. 4.4 présentant la variation du poids moyen corporel (cf. Annexe III.17) des larves (1,1 mg à l'éclosion) en fonction de l'âge montre que la meilleure croissance en poids se rencontre chez les larves du lot témoin élevé en conditions intensives. Cette meilleure croissance se reflète aussi dans la biomasse (pourtant, un contraste effectué entre le lot sevré à 112 mg et le lot témoin est non significatif, cf. tableau IV.1). De fait, une ANOVA 2 sur le logarithme des valeurs de la biomasse finale montre un effet hautement significatif du "régime" et ne permet pas de dire qu'il existe une variabilité entre 2 bassins pour un même "régime". Cela est illustré dans les Annexes III.4 et III.16.

En ce qui concerne les larves qui ont été sevrées à l'aliment artificiel, le meilleur résultat se rencontre chez celles qui le furent à 112 mg. Comme ce qui fut observé dans les résultats de survie, plus le sevrage fut commencé tard, plus les larves ont montré de bonnes performances. Cependant, nous remarquons une petite inversion entre les lots de larves sevrées à 13 et à 18 mg. Elle serait due à un fort cannibalisme (stressant) dans le cas du sevrage à 13 mg.

Nous observons aussi que les courbes de croissance en poids se séparent de la courbe du lot témoin peu de temps après le début des sevrages. Ces courbes sont toutes en-dessous de celle du lot témoin jusqu'à la fin du sevrage, sauf dans le cas des larves sevrées à 56 mg mais ce phénomène est de courte durée (± 5 jours), un plateau étant vite atteint.

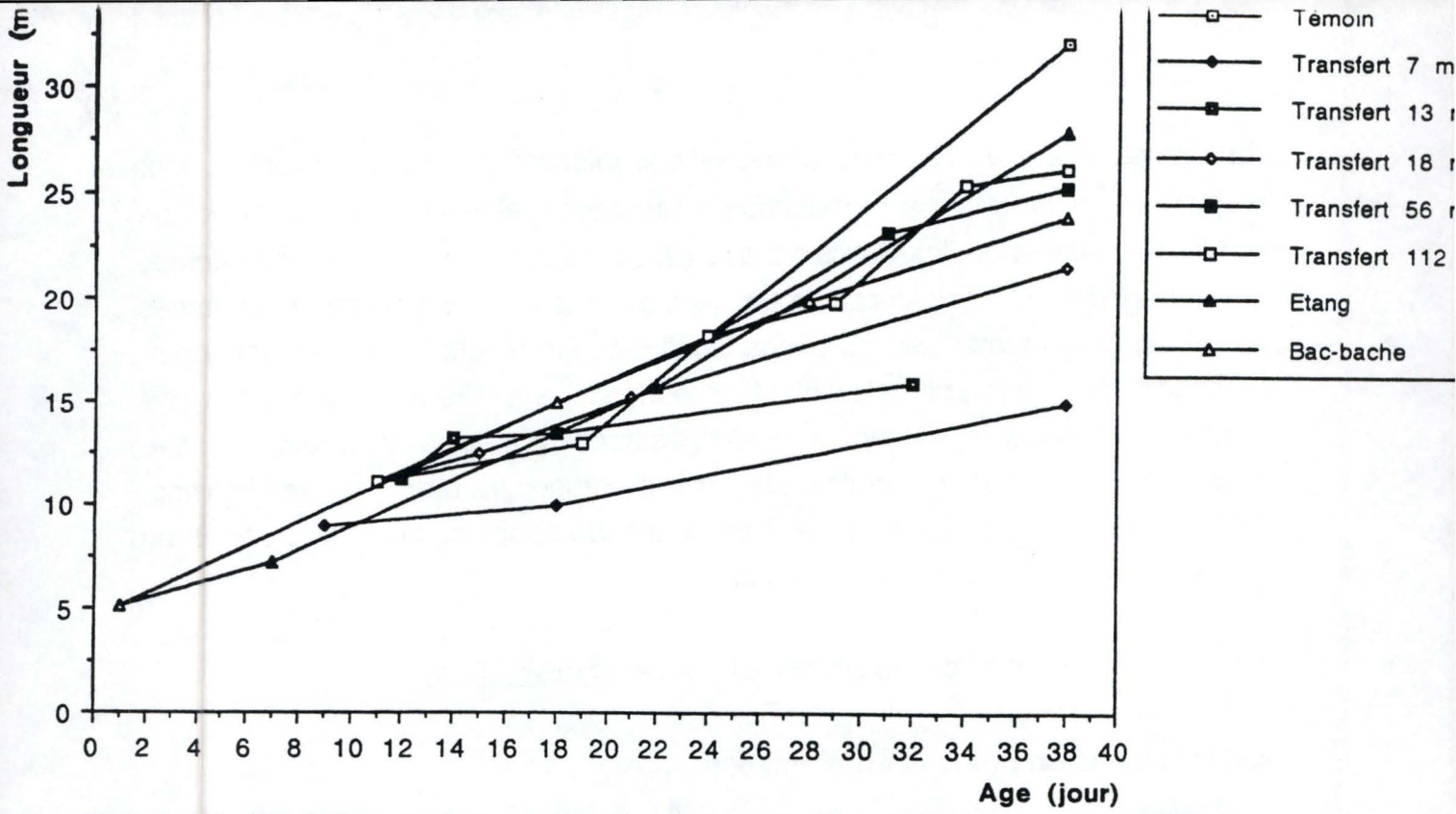


Figure 4.6: Evolution de la longueur des larves de l'expérience 1 et de celles de l'étang et des bassins-bâches (à titre indicatif) en fonction de leur âge.

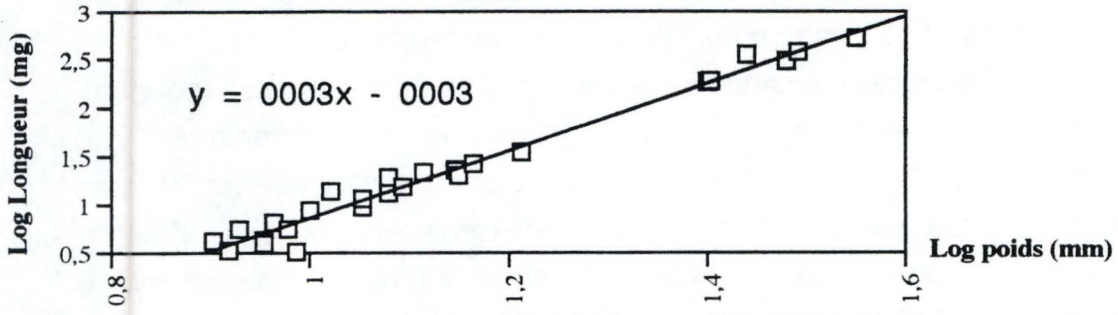


Figure 4.7: Relation poids/longueur des larves de l'étang.

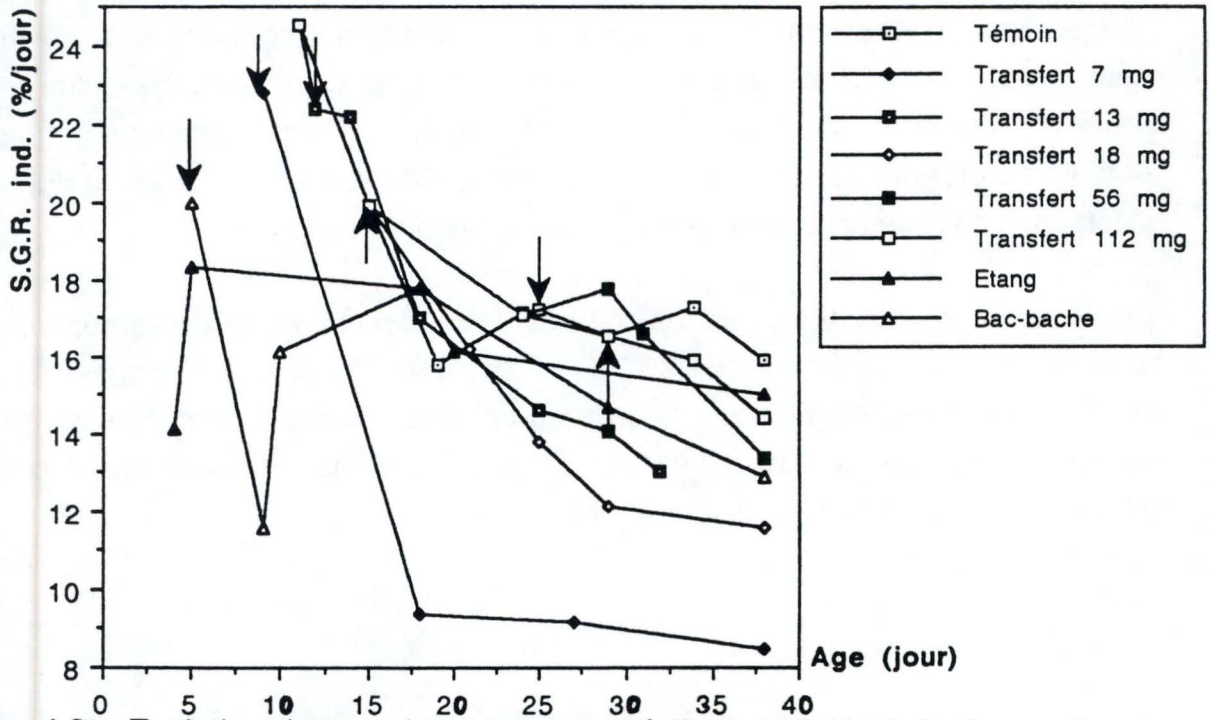


Figure 4.8: Evolution du taux de croissance spécifique individuel des larves de l'expérience 1 et de celles de l'étang et des bassins-bâches (à titre indicatif) en fonction de leur âge.
Note: les flèches indiquent le début du sevrage

A titre indicatif, nous constatons que la croissance en poids des larves de l'étang n'est pas très satisfaisante mais qu'elle a quand même permis d'atteindre une production de 110,9 kg/ha. Remarquons que, dans ce cas, il s'est formé rapidement deux classes de taille (Fig. 4.5) mais nous n'avons suivi que les larves les plus grandes, car elles étaient beaucoup plus faciles à échantillonner et nombreuses. Cependant, certaines des plus grandes larves étaient sûrement cannibales envers les plus petites larves. Quant aux larves venant des bassins-bâches, elles ont apparemment une moins bonne croissance. Notons néanmoins qu'ici, l'intervalle de temps examiné comprend des larves qui ne sont pas encore complètement sevrées.

b. Croissance en longueur

Les observations que l'on peut faire sur la Fig. 4.6 sont du même ordre que celles faites sur la Fig. 4.4. Pourtant, cette figure apporte l'information supplémentaire que les larves (de 5,68 mm à l'éclosion) sevrées à 13 mg en conditions intensives ont d'abord (les 10 premiers jours après le sevrage) eu la meilleure croissance en longueur avant de se stabiliser, quand le cannibalisme devenait très intense. Rappelons ici que les paramètres suivis sont toujours ceux de larves présumées non cannibales, c'est-à-dire dont le poids et la longueur ne sont pas trop supérieurs à la moyenne. La longueur des larves est reliée par une relation logarithmique à leur poids comme le prouve la figure 4.7.

c. Taux de croissance spécifique (= S.G.R.)

• S.G.R. individuel calculé avec chaque fois un poids initial de 1,1 mg:

Ce S.G.R. est élevé pour tous les lots vers le 10-11ème jour et diminue irrégulièrement par la suite (Fig. 4.8). En effet, le lot témoin montre encore 2 pics, un vers le 25ème jour suivant l'éclosion et un vers le 34ème jour. Pour les larves sevrées à 56 et à 112 mg (voir flèches), un 2ème pic est observé à, respectivement, 29 et 34 jours après l'éclosion. Par contre, dans le cas des lots sevrés avant 56 mg, il n'y a pas de deuxième pic et le S.G.R. continue à diminuer après le sevrage. Notons que les S.G.R. des lots sevrés à 56 et à 112 mg sont assez proches de celui du lot témoin, ce qui montre qu'à la fin de l'expérience, les larves commencent bien à s'adapter à l'aliment artificiel. En ce qui concerne les larves des bassins-bâches (tableau IV.2),

Les larves de l'étang ont un S.G.R qui montre un pic unique plus tôt et qui diminue moins fort et plus régulièrement, car l'apport d'aliments vivants est

endogène et souvent plus adéquat, par rapport à l'élevage en conditions intensives. Quant aux larves élevées dans les bassins-bâches, elles voient leur S.G.R. continuer à descendre lors du début du sevrage. Ce dernier remonte vers le 10ème jour mais reste généralement inférieur à celui de l'étang. Cependant, en fin d'expérience, ces larves ont quand même un S.G.R. relativement élevé, surtout lorsqu'il est calculé avec la biomasse. Mais notons qu'ici, l'aliment artificiel utilisé est du Seabream, contrairement à du LANSY, lors de l'élevage en conditions intensives. Enfin, nous observons, en comparant les Fig. 4.4 et 4.7 que la croissance des larves selon un mode exponentiel cesse au plus tard vers le 30ème jour.

• S.G.R. individuel sur les poids initial et final de l'expérience (Tableau IV.1) :

En conditions intensives, le meilleur résultat est derechef attribué au lot témoin tandis que le moins bon appartient au lot des larves sevrées à 7 mg. Comme dans les résultats précédents, le sevrage à 18 mg est moins efficace que celui à 13 mg. En ce qui concerne les S.G.R. des larves de l'étang et de celles des bassins-bâches (tableau IV.2), ils sont assez élevés, surtout chez les larves élevées en conditions semi-intensives, ce qui montre que leur croissance globale est quand même très bonne.

• S.G.R. calculé avec les biomasses initiale et finale (Tableau IV.1) :

Comme il est calculé avec les biomasses initiale et finale, il est négatif (dans ce cas, sa valeur n'est pas indiquée) pour les lots de larves sevrées à 7, 13 et 18 mg. Ce facteur intégrant la survie et l'effet du cannibalisme nous montre bien que les sevrages effectués à des poids inférieurs à 112 mg provoquent de mauvaises croissances globales.

d. Utilisation de l'aliment distribué (Tableau IV.1)

Le taux de conversion alimentaire est le meilleur dans le cas du lot témoin élevé en conditions intensives, ce qui est logique avec les résultats précédents. Le cœfficient d'efficacité protéique est aussi le plus élevé pour le lot témoin et il est suivi par celui des larves sevrées à 112 mg. Pour ce qui est des bassins-bâches, le T.C.A. (Tableau IV.2) très bas pourrait témoigner à nouveau de la bonne acceptation des aliments dans ces conditions semi-intensives mais il ne faut pas oublier qu'ici, un biais est engendré par le zooplancton.

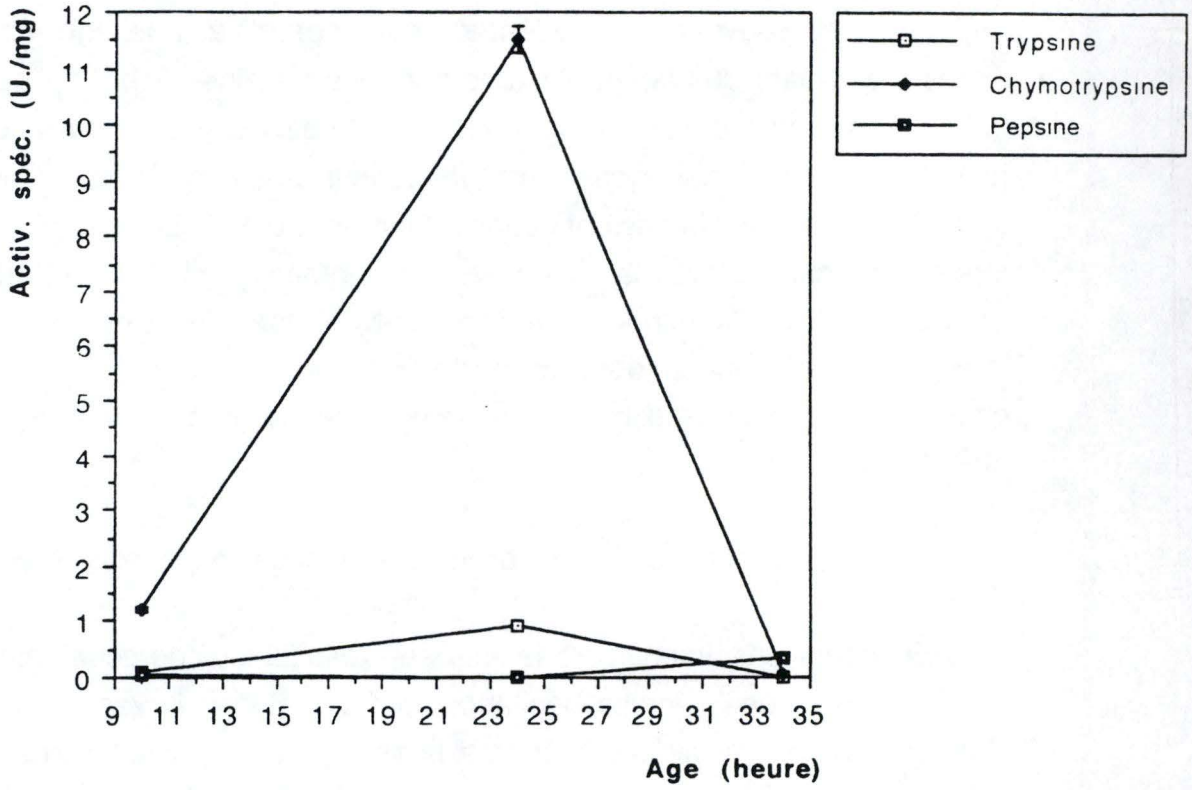


Figure 4.9: Evolution de l'activité enzymatique spécifique des oeufs en fonction du nombre d'heures suivant leur fécondation.

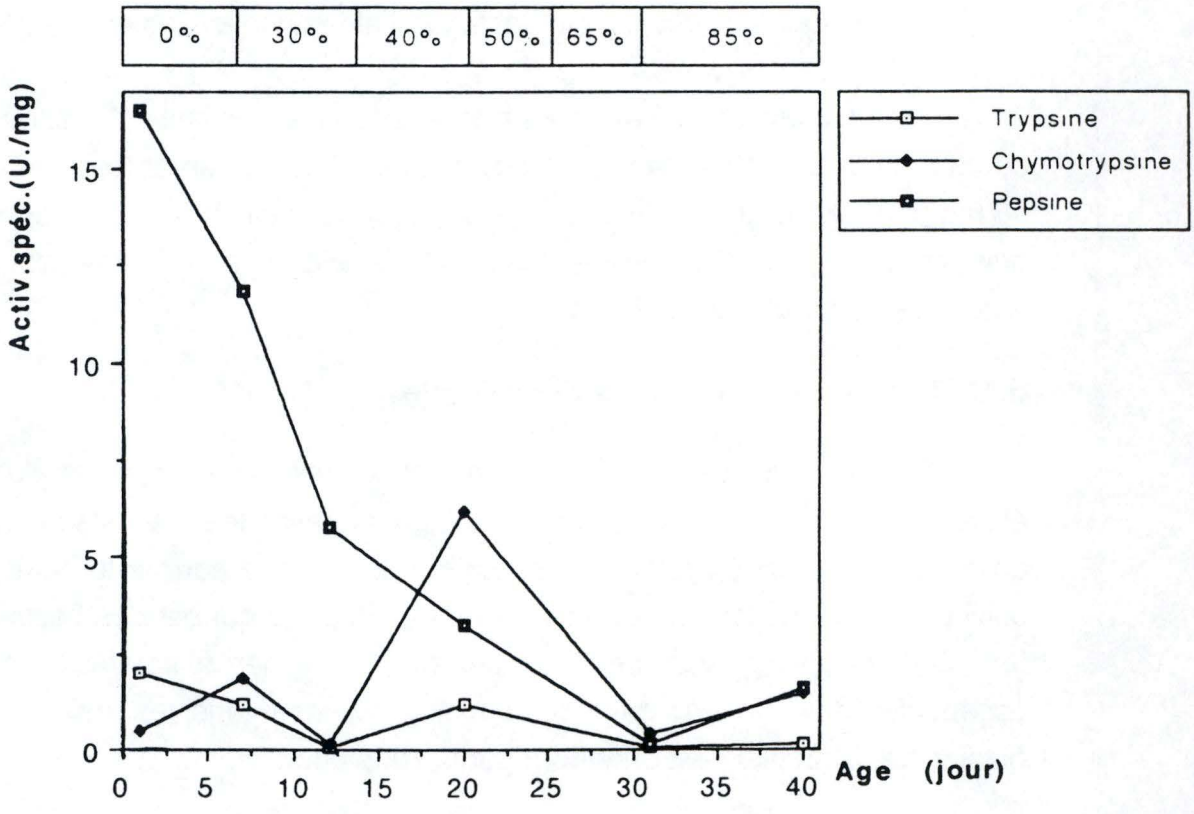


Figure 4.10: Evolution de l'activité enzymatique spécifique du tube digestif entier des larves des bassins- bâches en fonction de leur âge.

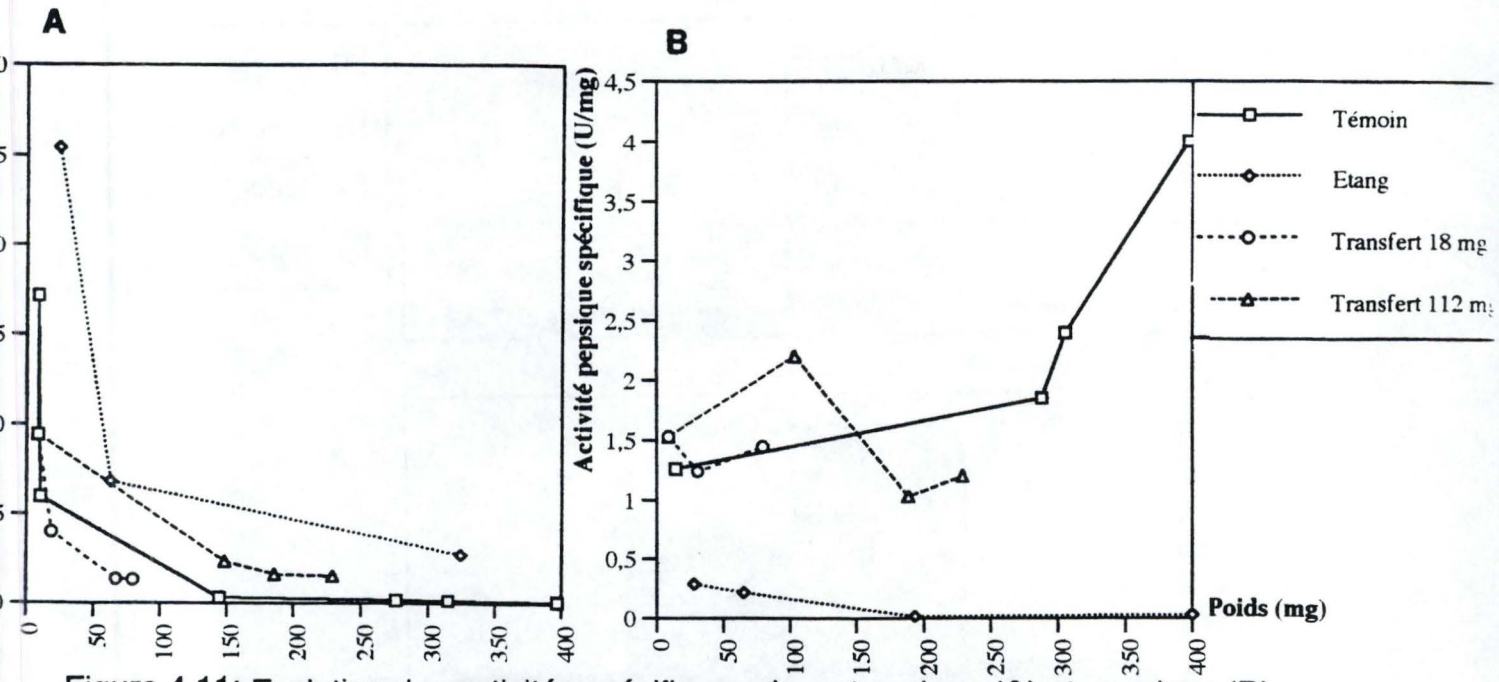


Figure 4.11: Evolution des activités spécifiques chymotrypsique (**A**) et pepsique (**B**) du tube digestif entier de larves en fonction de leur poids avec:
- des larves nourries uniquement d'*Artemia* (=témoin).
- des larves de l'étang (=standard).
- des larves sevrées à un poids moyen de 18 mg.
- des larves sevrées à un poids moyen de 112 mg.

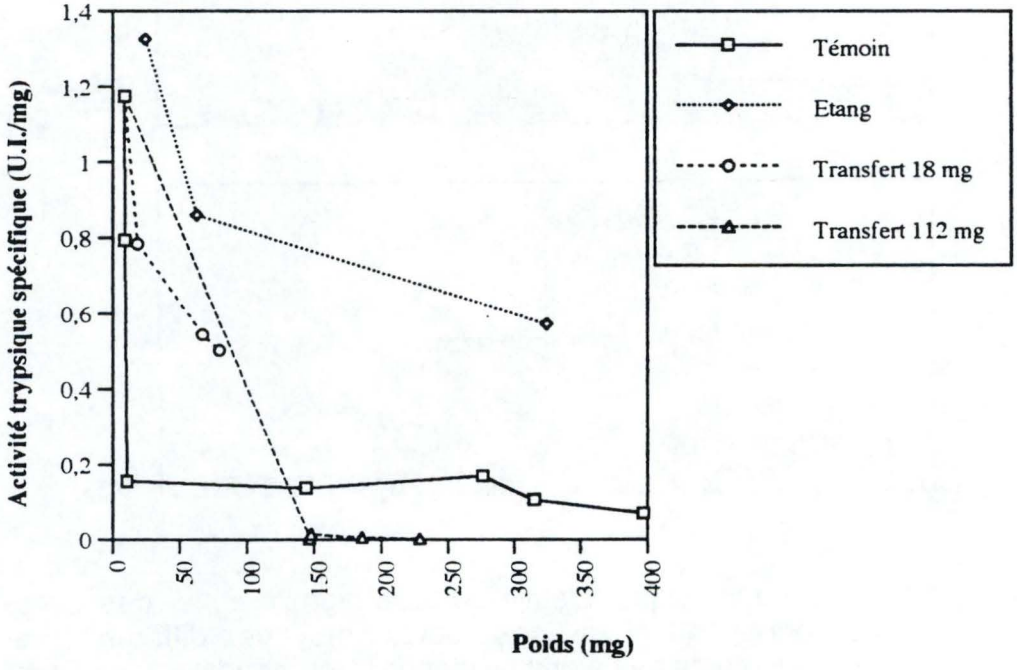


Figure 4.12: Evolution de l'activité spécifique trypsique du tube digestif entier de larves en fonction de leur poids avec:
- des larves nourries uniquement d'*Artemia* (=témoin).
- des larves de l'étang (=standard).
- des larves sevrées à un poids moyen de 18 mg.
- des larves sevrées à un poids moyen de 112 mg.

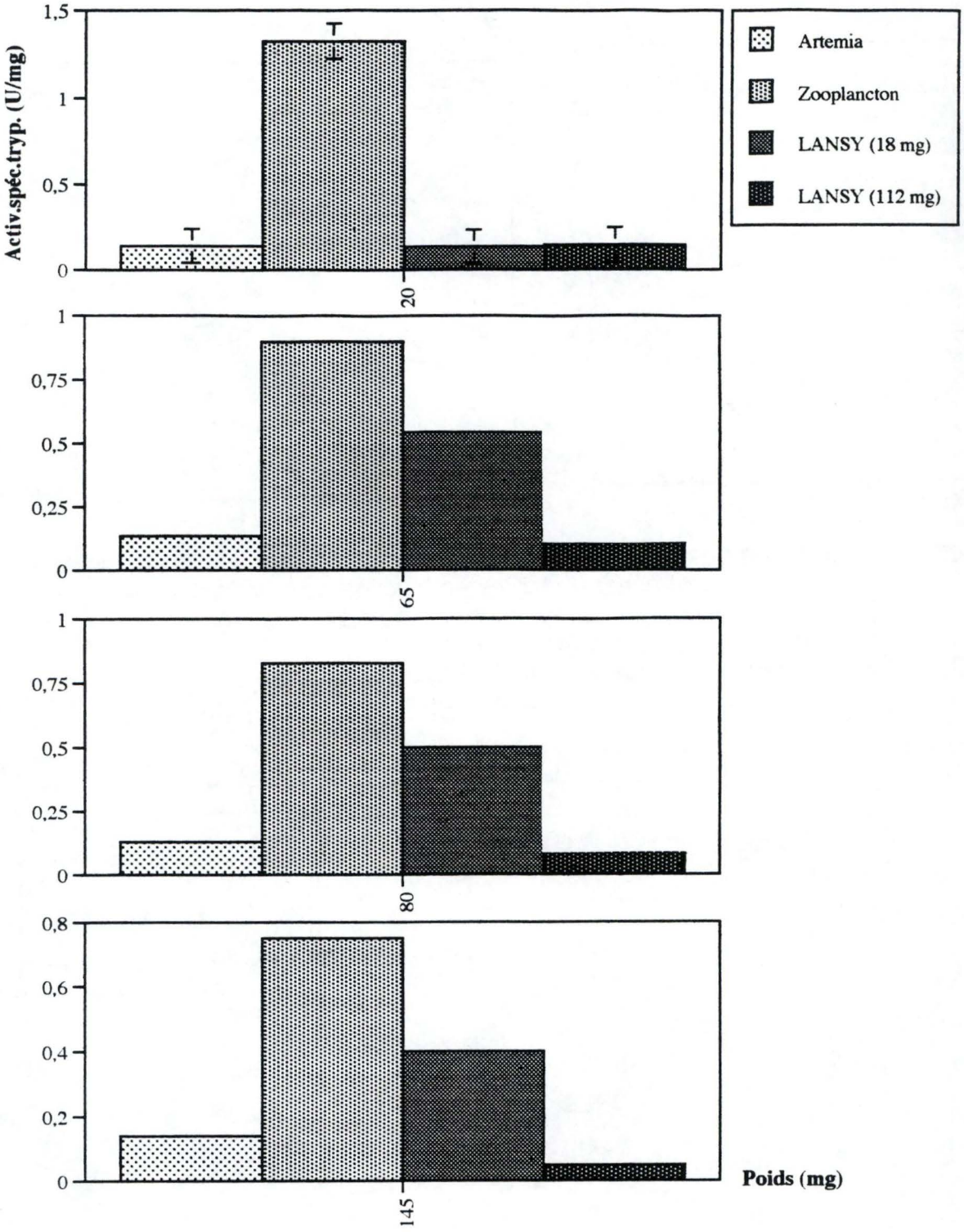


Figure 4.13 a: Activité trypsique relative du tube digestif entier des larves de l'expérience 1, à des poids moyens différents, avec:
- des larves de l'étang (= standard en conditions extensives).
- des larves nourries d'*Artemia* (= témoin en conditions intensives).
- des larves sevrées à un poids moyen de 18 mg.
- des larves sevrées à un poids moyen de 112 mg.

1.4.1.3. Evolution des activités enzymatiques

Rappelons d'abord que les valeurs utilisées ici sont celles de poissons dont nous sommes certains qu'ils se sont nourris avant les mesures.

Dans les œufs (Fig. 4.9), les activités spécifiques sont très faibles à 10 heures et à 34 heures après la fécondation, à 12°C. Par contre, à 24 heures, l'activité spécifique chymotrypsique (et trypsique) est plus élevée. Cela donnerait à la chymotrypsine et un peu à la trypsine un rôle dans la maturation embryonnaire. Les activités spécifiques élevées de la pepsine et de la trypsine (comparativement à celles à 10 et à 34 heures) se retrouvent chez les larves d'un jour (Fig. 4.10), ce qui soutiendrait un rôle de ces deux enzymes dans l'éclosion.

Grâce aux trois graphes composant les Fig. 4.11 a et b et 4.12, nous pouvons comparer l'activité spécifique de nos trois enzymes évoluant avec le poids des larves, chez un lot standard de larves élevées en étang, chez un lot produit en conditions intensives avec un aliment naturel (= *Artemia*), chez un lot sevré assez tôt (vers 18 mg et 15 jours après l'éclosion) sur aliment artificiel et montrant une faible croissance, et chez un lot sevré assez tard (vers 112 mg et après 29 jours) et produisant une bonne croissance.

En ce qui concerne la trypsine (Fig. 4.12), nous constatons que son activité est forte après l'éclosion et diminue avec le poids des larves jusqu'à la fin de l'expérience pour tous les lots. Son activité est plus élevée chez les larves se nourrissant de zooplancton (cfr. étang), par rapport aux larves produites en conditions intensives et chute plus brusquement chez les larves nourries d'*Artemia* (=aliment vivant). Le transfert vers un aliment artificiel semble ralentir cette diminution de l'activité trypsique si le sevrage est effectué tôt. Par contre, s'il est réalisé plus tard, l'aliment artificiel fait diminuer l'activité à un niveau inférieur à celui du témoin. Tout cela est illustré sous forme d'histogramme à la Fig. 4.13 a. Nous y avons représenté les activités trypsiques spécifiques de différents lots de larves les unes par rapport aux autres, pour des mêmes poids moyens (20, 65, 80 et 120 mg). Ces poids ont été choisis pour connaître les activités de différentes larves de même poids, et ce, avant, (pendant) et après un transfert sur un aliment artificiel, dans le cas de sevrages. La Fig. 4.13 b nous apporte l'information complémentaire que, chez les larves dont le sevrage a débuté à 7, 13 et à18 mg, la différence d'activité avant et après un nourrissage est plus élevée après le sevrage qu' avant le début de celui-ci, contrairement à ce qui est observé chez les

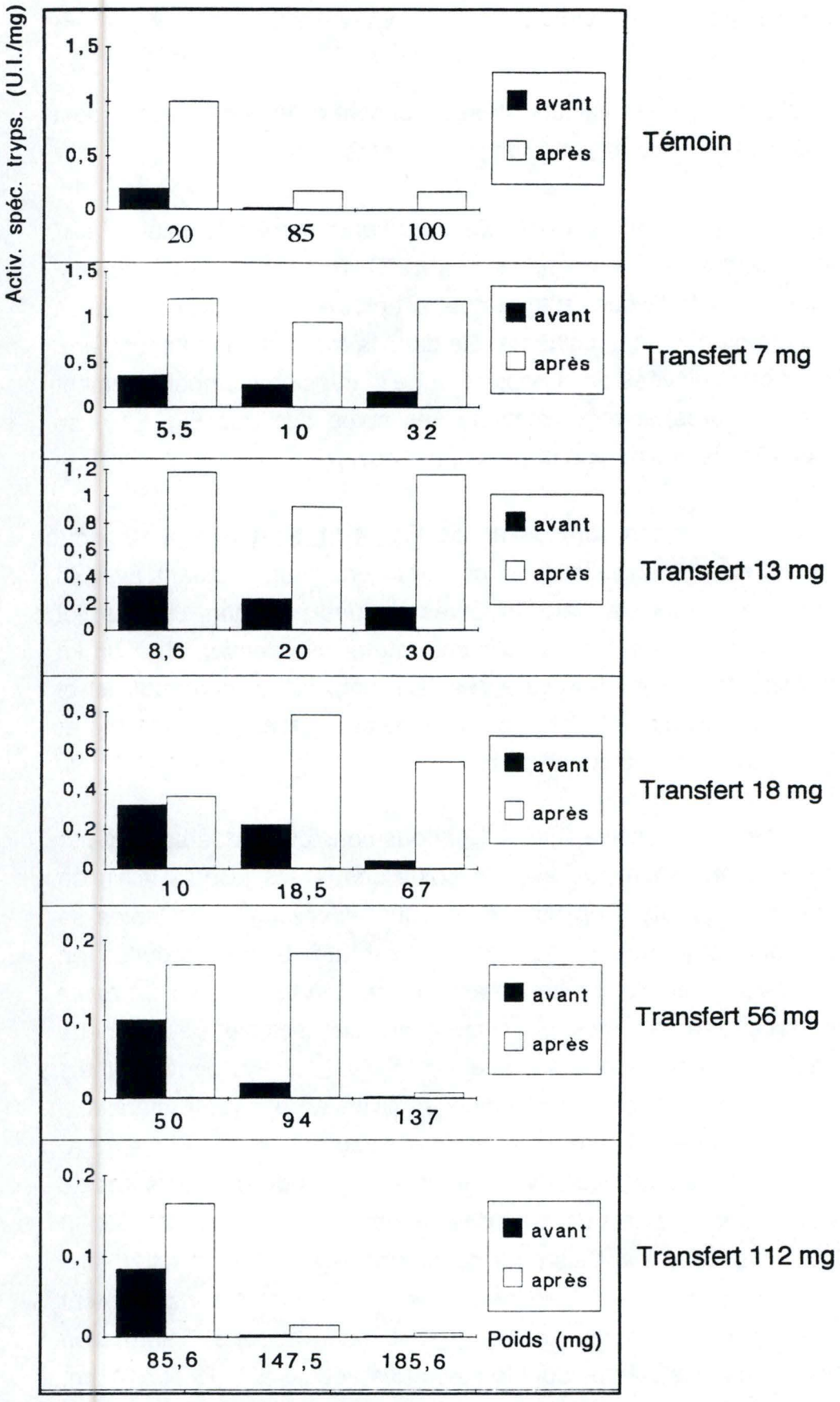


Figure 4.13 b: Activité trypsique spécifique du tube digestif entier des larves de l'expérience 1, avant et après nourrissage, à des poids moyens différents, avec:
- des larves de l'étang (= standard en conditions extensives).
- des larves nourries d'*Artemia* (= témoin en conditions intensives).
- des larves sevrées à un poids moyen de 18 mg.
- des larves sevrées à un poids moyen de 112 mg.

larves sevrées à 56 et à 112 mg. Chez celles qui ont été sevrées à 18 et à 56 mg, nous remarquons que, durant la période d'alimentation mixte, l'activité est fortement augmentée. Quant aux larves sevrées à 112 mg, leur activité ne semble pas accrue par l'apport d'un aliment artificiel, mais paraît abaissée par celui-ci., comme c'était observé dans la Fig. 4.13 a.

Pour ce qui est de la chymotrypsine (Fig. 4.11 a), son activité diminue aussi avec le poids des larves mais, quantitativement, elle est plus élevée que les activités trypsique et pepsique. Ce sont à nouveau les larves de l'étang qui ont l'activité la plus forte mais la différence d'activité avec les larves nourries d'*Artemia* est ici moins accentuée. Deux autres différences avec la trypsine sont que le lot témoin a la moins forte activité chymotrypsique face aux larves sevrées et que cette activité commence à diminuer moins vite quand de l'aliment artificiel est distribué et atteint un plateau identique en fin de sevrage, que les larves soient sevrées tôt ou tard.

Voyons ce qui se passe pour la pepsine grâce à la Fig. 4.11 b. Son activité est plus basse chez les larves de l'étang, face aux autres larves, contrairement aux 2 cas précédents. Dans ces 2 cas, l'activité ne diminue pas avec le poids des larves mais augmente après un certain poids (qui serait plus élevé chez les larves de l'étang). Son apparition est liée à la formation de l'estomac et, selon ces résultats, il serait fonctionnel à partir d'un poids de 15 mg. L'activité pepsique s'élève un peu plus fort après 300 mg, quand la trypsine et surtout la chymotrypsine ont atteint des niveaux très bas, comme si la pepsine prenait le relais dans la digestion protéique. L'aliment artificiel ne provoque pas de grands changements dans l'activité pepsique puisque, chez les larves sevrées, l'activité est du même ordre que chez les larves du lot témoin. Tout au plus, un sevrage tardif fait diminuer temporairement cette activité mais cette diminution est d'une faible intensité.

Si nous comparons ces résultats à ceux obtenus avec les larves élevées en bassins-bâches (Fig. 4.10), nous constatons que la digestion pepsique commence seulement là à augmenter à 31 jours (vers 60 mg). De plus, l'activité pepsique est beaucoup plus élevée avant 20 jours après l'éclosion que chez toutes les autres larves. Ici, l'activité trypsique est aussi plus élevée en général et, quand l'aliment artificiel passe de 30 à 40 % dans la ration alimentaire, elle se voit augmentée temporairement. Quant à l'activité chymotrypsique, elle est du même ordre de grandeur que chez les autres larves et semble être augmentée par l'apport d'aliments artificiels, comme c'était le cas chez les larves sevrées en conditions

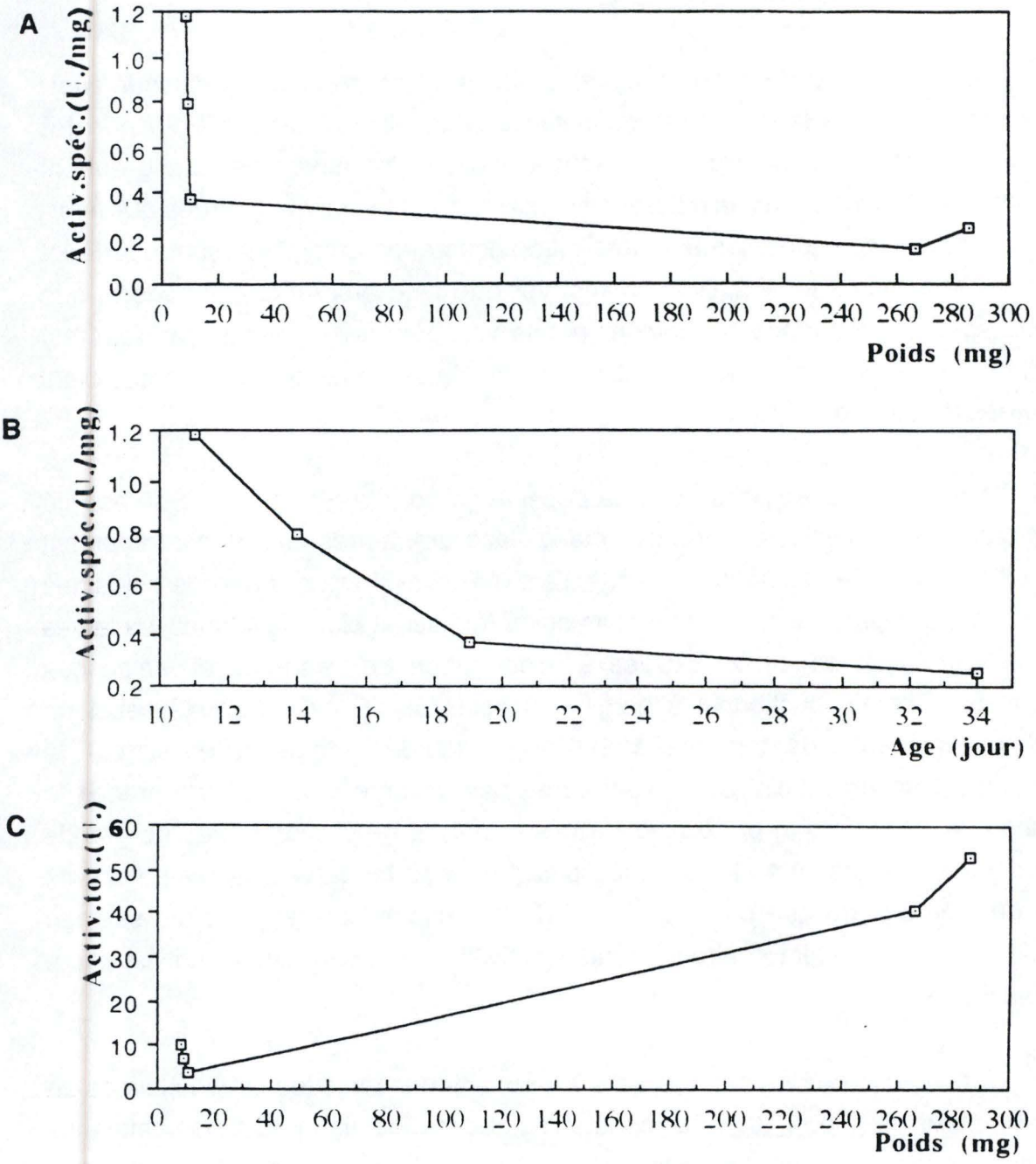


Figure 4.14 Evolution de l'activité enzymatique:
A: spécifique du tube digestif entier des larves témoin selon leur poids.
B: totale du tube digestif entier des larves témoin selon leur âge.
C: totale du tube digestif entier des larves témoin selon leur poids.

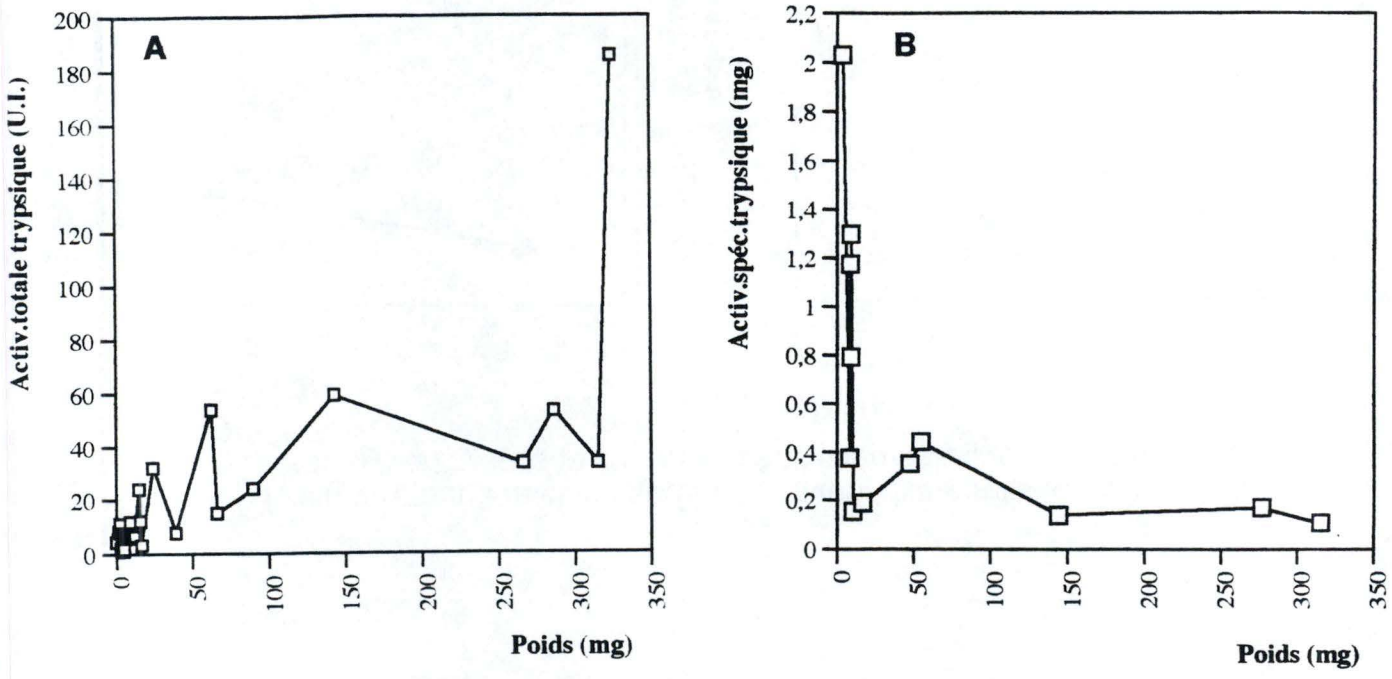


Figure 4.15: Evolution des activités trypsiques totale (**A**) et spécifique (**B**) des larves de plusieurs expériences nourries uniquement d'*Artemia*.

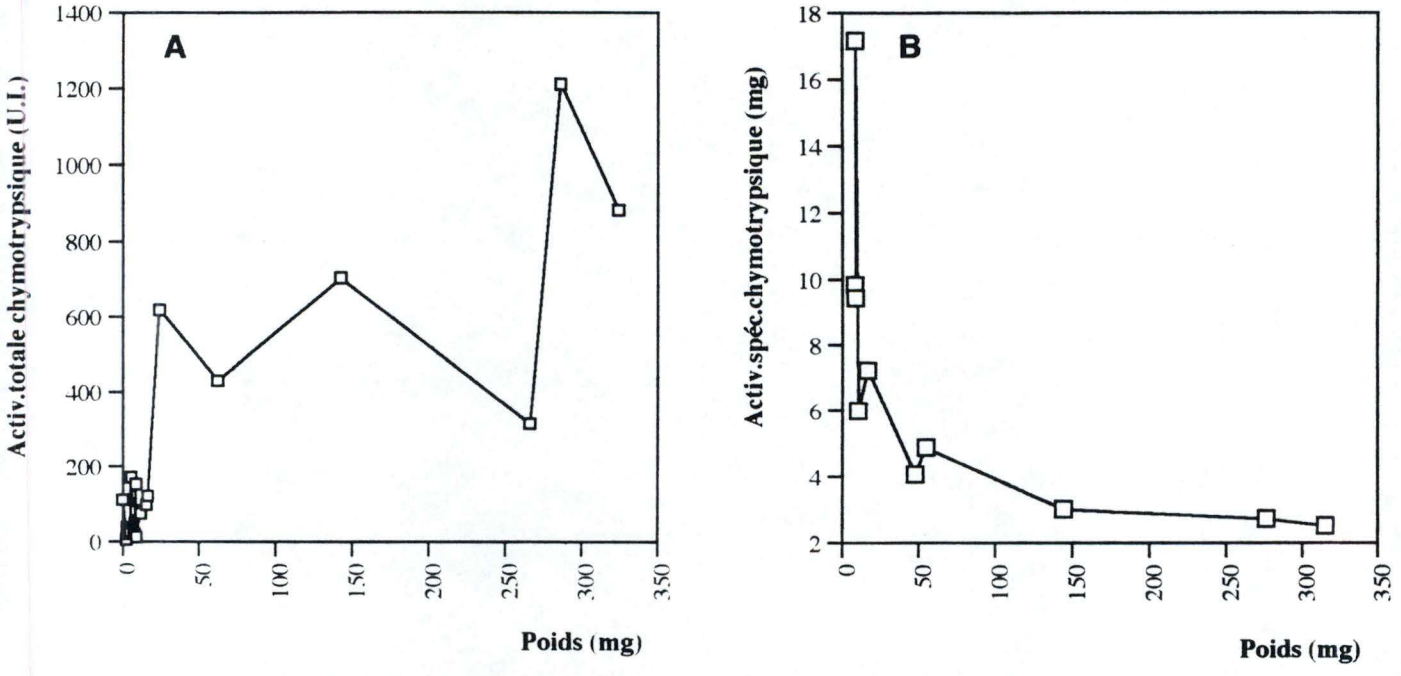


Figure 4.16: Evolution des activités chymotrypsiques totale (**A**) et spécifique (**B**) des larves de plusieurs expériences nourries uniquement d'*Artemia*.

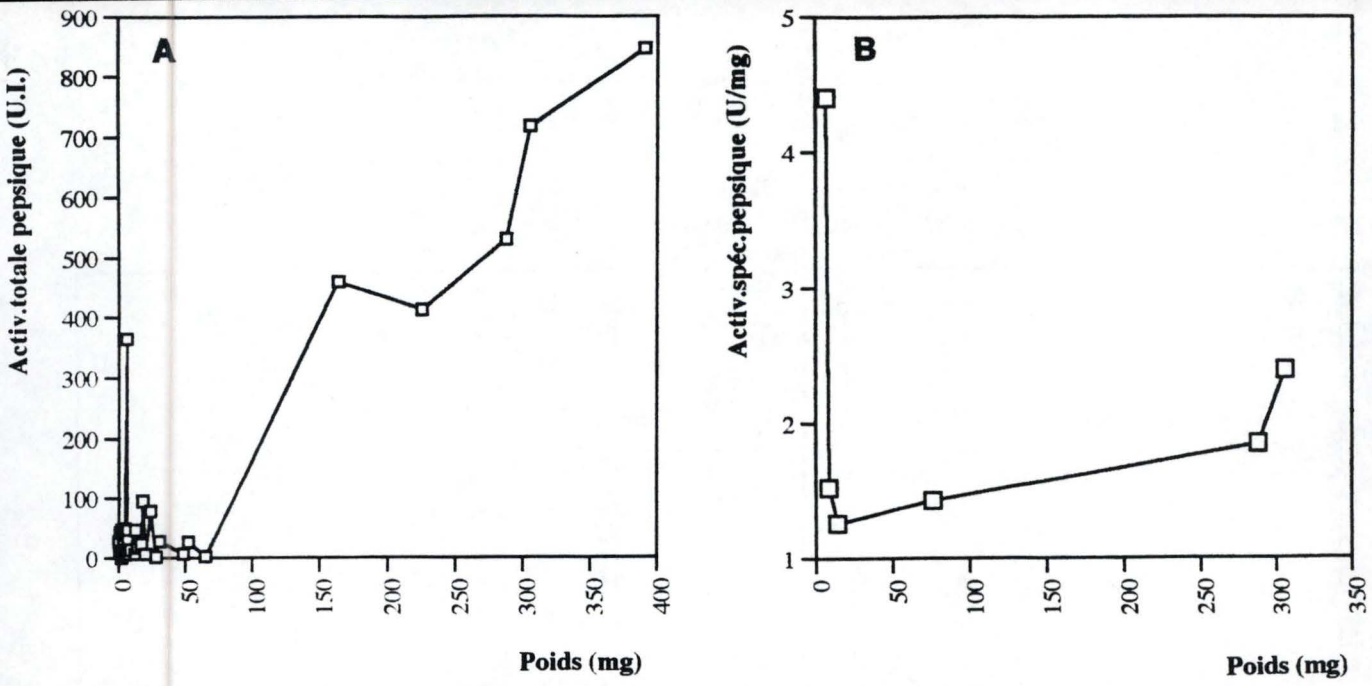


Figure 4.17: Evolution des activités pepsiques totale (**A**) et spécifique (**B**) des larves de plusieurs expériences nourries uniquement d'*Artemia*.

intensives. Nous remarquons également que l'élévation des activités des enzymes pancréatiques suite au sevrage est plus intense ici que chez les larves élevées en conditions intensives. Cela est peut-être à relier avec la nature différente de l'aliment artificiel; ici, c'était du Seabream et pas du LANSY.

Bien que ces observations permettent de nous montrer un effet (pourtant, des ANOVA 2 effectuées avec le témoin et le lot sevré à 18 mg ne le mettent pas en évidence, cf. Annexes III.7) de l'aliment artificiel sur les activités enzymatiques (surtout une élévation des activités chymotrypsique et trypsique), elles ne déterminent pas le meilleur moment pour sevrer les larves.

Comme le but de cette expérience est de trouver ce moment, voyons à présent l'évolution de l'activité trypsique chez les larves de perche nourries d'*Artemia* (Fig. 4.14 a, b et c). D'abord, rappelons que l'on peut suivre soit l'activité spécifique, soit l'activité totale de la trypsine, selon que l'on divise ou pas l'activité par le poids corporel des larves ayant servi aux dosages. Il est aussi possible d'analyser ces activités, soit en fonction de l'âge des larves, soit selon leur poids. En comparant ces trois figures, nous constatons que, pour déterminer le meilleur moment pour le sevrage, il est préférable de suivre l'activité spécifique, car elle n'est pas biaisée par le poids des larves, et ce, en fonction du poids, car il ne change pas selon la température d'élevage comme l'âge et, car on peut plus facilement parler de poids moyen que d'âge moyen, vu qu'à un âge correspondent des poids différents.

Ainsi, nous observons que l'activité trypsique totale de larves nourries d'*Artemia* commence seulement à s'élever plus fort après 270 mg, ce qui indiquerait qu'à ce moment, l'activité digestive des perches est devenue assez efficace.

Mais cette observation est encore trop peu précise pour nous, c'est pourquoi il est intéressant de suivre l'évolution des activités totales et spécifiques de nos trois enzymes, avec de plus petits intervalles de poids.

En comparant les Fig. 4.15 a et b (effectuées avec les lots témoins des toutes les expériences), nous constatons que l'activité totale trypsique augmente plus fort après 270 mg, quand la même activité diminue encore. L'activité chymotrypsique (Fig. 4.16 a et b) a tendance à montrer une plus forte croissance après 65 mg, comme c'est le cas avec la pepsine (Fig. 4.17 a et b).Un phénomène

Tableau IV.4: Moyennes (et écarts-types) des paramètres zootechniques lors de l'expérience 3.

	Sevrage 11j	Sevrage 21j	Sevrage 24j
Durée (jour)	30	30	30
Nombre initial	500	500	500
Nombre final	108,5 (±72,8)	86 (±1,4)	47,5 (±13,4)
Survie apparente (%)	55,2 (±12,3)	53,6 (±13,5)	59,4 (±11)
Survie réelle (%)	21,7 (±12,6)	17,2 (±0,3)	9,5 (±0,4)
Cannibalisme (%)	33,5	36,4	54,3
Poids moyen initial (mg)	10,7	10,7	10,7
Poids moyen final (mg)	135,7 (±40,8)	116,6 (±79,7)	82,16 (±34,8)
Biomasse initiale (g)	5,35	5,35	5,35
Biomasse finale (g)	13,77 (±4,14)	10,03 (±8,1)	3,9 (±1,65)
S.G.R.ind. (%/j)	8,46	7,96	6,79
S.G.R.biom. (%/j)	3,15	2,09	/
T.C.A.	8,08	13,22	18,23
C.E.P.	0,226	0.198	0,142

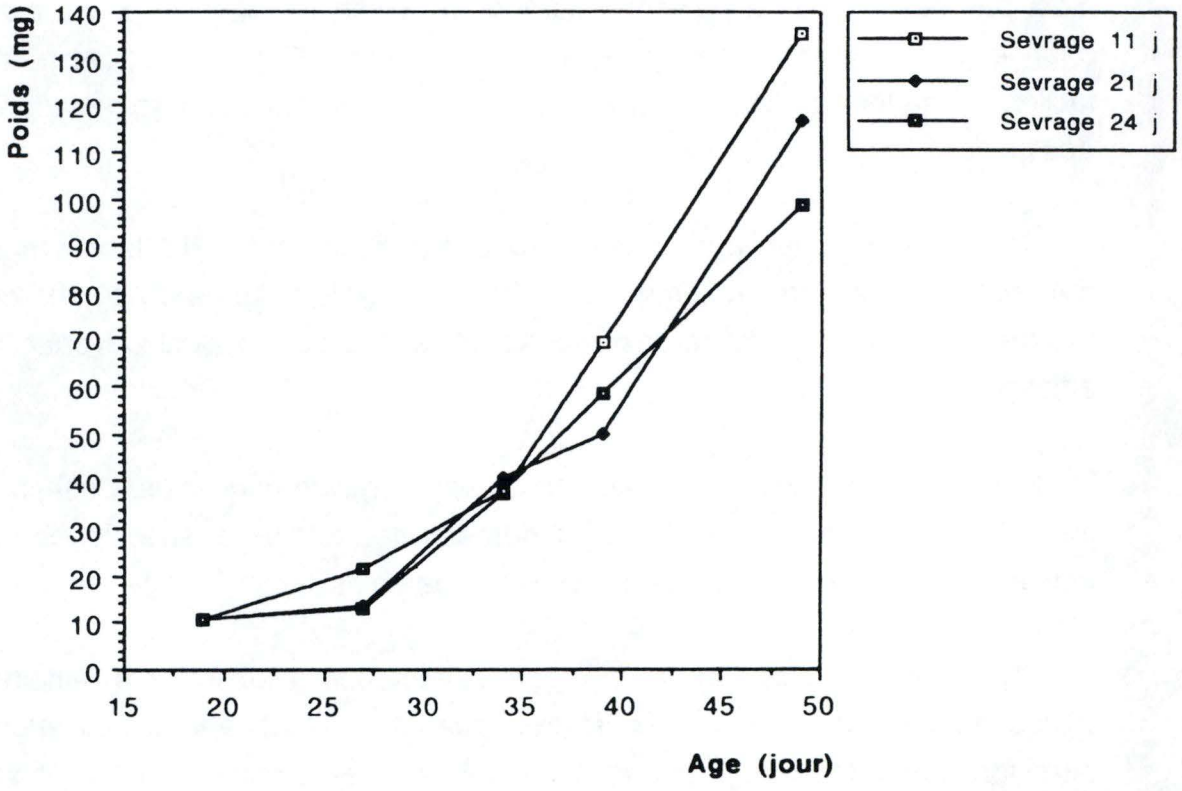


Figure 4.18: Evolution du poids corporel des larves de l'expérience 2 en fonction de leur âge.

qui existe chez les trois enzymes à la fois est une augmentation plus accentuée de l'activité totale vers 65 mg et qui dure au moins jusqu'à 350 mg.

On comprend mieux ainsi qu'un sevrage ayant débuté à 56 mg ait mené à des résultats nettement moins bons qu'un sevrage commencé à 112 mg. D'autres part, nous pouvons proposer un poids moyen minimum d'environ 300 mg (cf.activité pepsique spécifique) pour un sevrage, car, à ce moment, les trois activités sont assez élevés. Mais, rappelons à ce sujet qu'une forte activité n'est pas toujours synonyme d'une bonne croissance. C'est pourquoi il faut traiter cette information avec beaucoup de prudence.

4.2. EXPERIENCE TESTANT LA DUREE DE LA PHASE DE TRANSITION VERS UN ALIMENT ARTIFICIEL

4.2.1. Evolution des critères zootechniques (Tableau IV.3)

Les conditions physico-chimiques dans lesquelles a été réalisée cette expérience étaient satisfaisantes avec les valeurs moyennes respectives de 21,7°C, 0,088 mg/l, 6 mg/l et 0,031 mg/l. pour la température et les concentrations en O_2, NO_2^- et NH_3.

En ce qui concerne la survie réelle, la "mortalité expliquée par le cannibalisme", les croissances en poids (Fig. 4.18) et en longueur (Fig. 4.20), la biomasse finale (pourtant, une ANOVA 2 sur le logarithme des valeurs est non significative pour l'effet des "régimes" mais hautement significative en ce qui concerne l'existence d'une variabilité au sein d'un même "régime", cf.Annexe III. 5 et III.9), les S.G.R. "individuel" et "biomasse", le T.C.A. et le C.E.P., les meilleures (Fig. 4.21) performances sont enregistrées dans les lots de larves dont le sevrage a été effectué le plus rapidement. Ce lot est suivi par celui dont le temps de sevrage est intermédiaire, puis par celui qui a un sevrage très long. Néanmoins, les larves chez qui la durée de la phase transitoire fut intermédiaire enregistrent la survie apparente (Fig. 4.19) finale la moins bonne tandis que les larves dont le sevrage fut réalisé plus rapidement sont, dans ce cas, les meilleures. Mais n'oublions pas que cette survie est peu réaliste, car elle ne tient pas compte du cannibalisme qui est justement très élevé dans le cas des larves sevrées en un temps plus long.

4.2.2. Evolution des activités enzymatiques

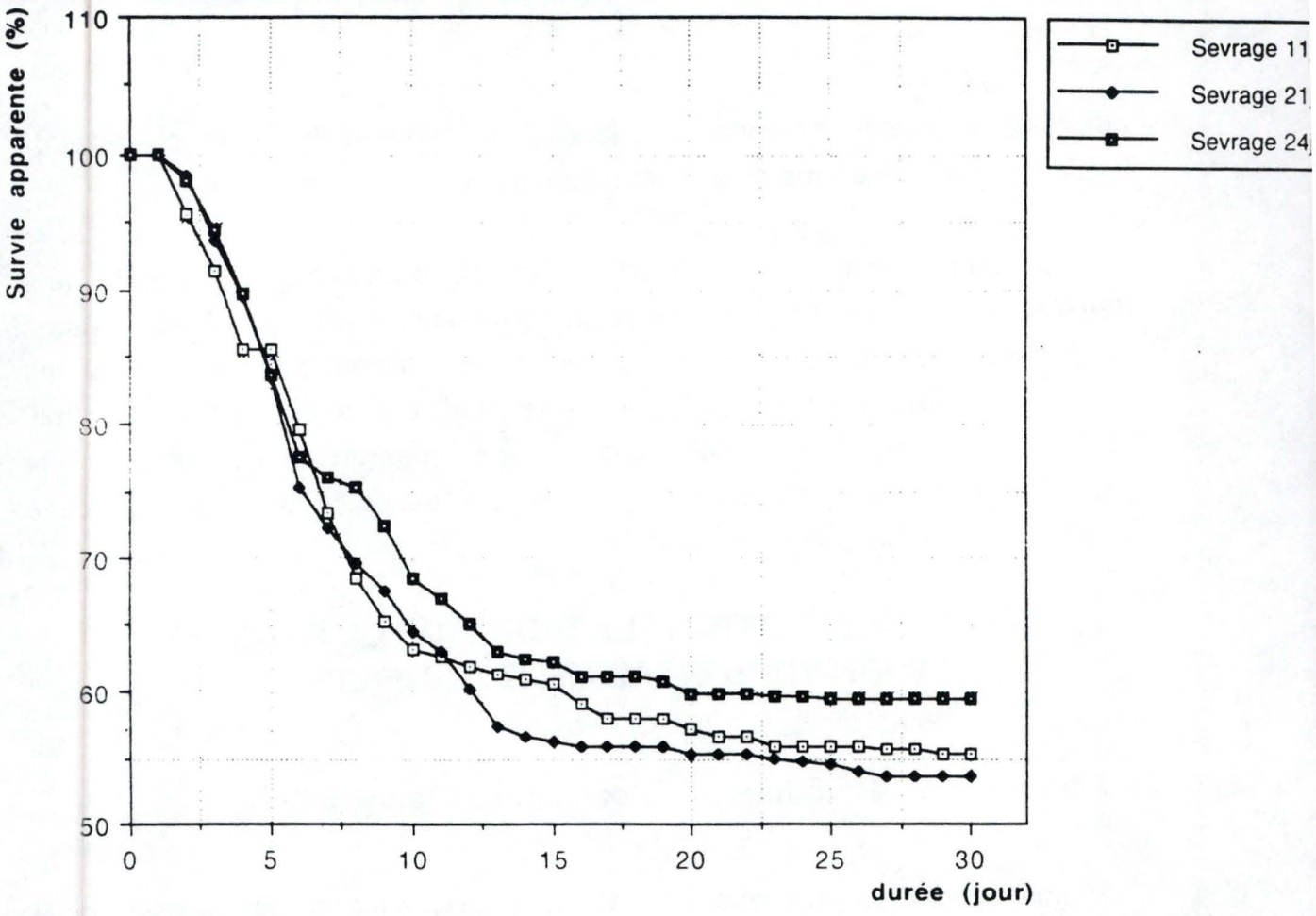


Figure 4.19: Evolution de la survie apparente des larves en fonction de la durée de l'expérience 2.

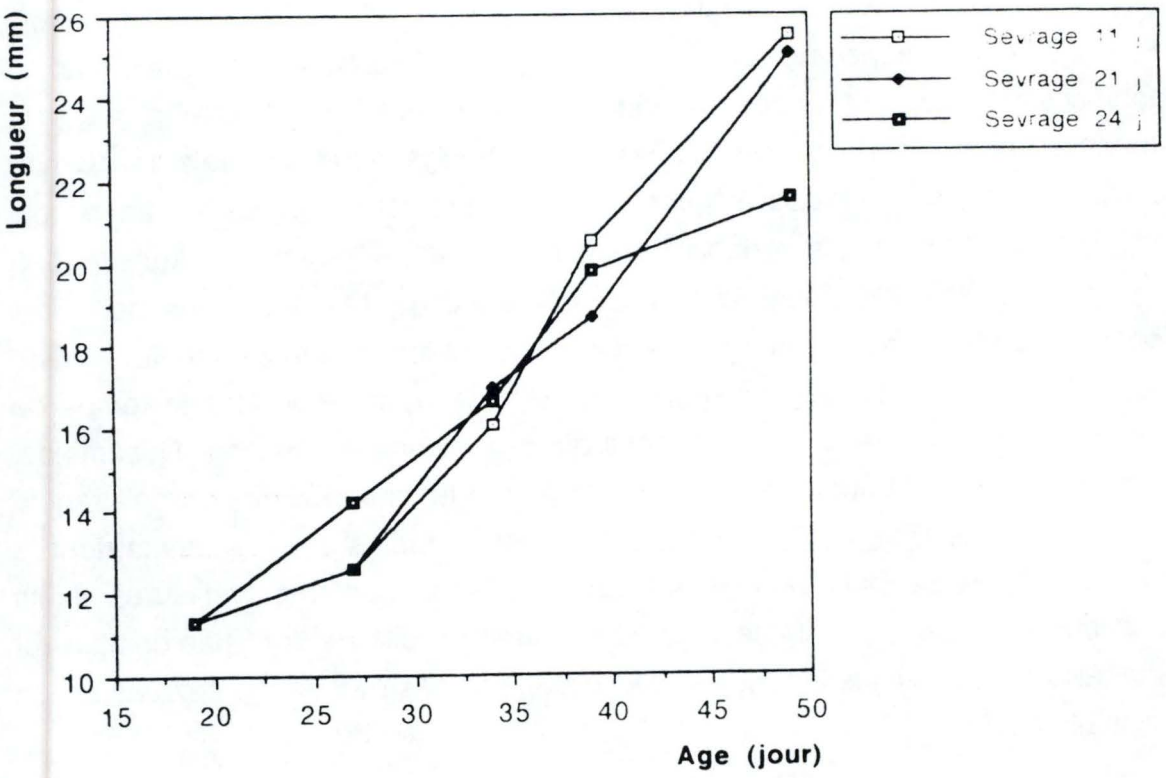


Figure 4.20: Evolution de la longueur des larves de l'expérience 2 en fonction de leur âge.

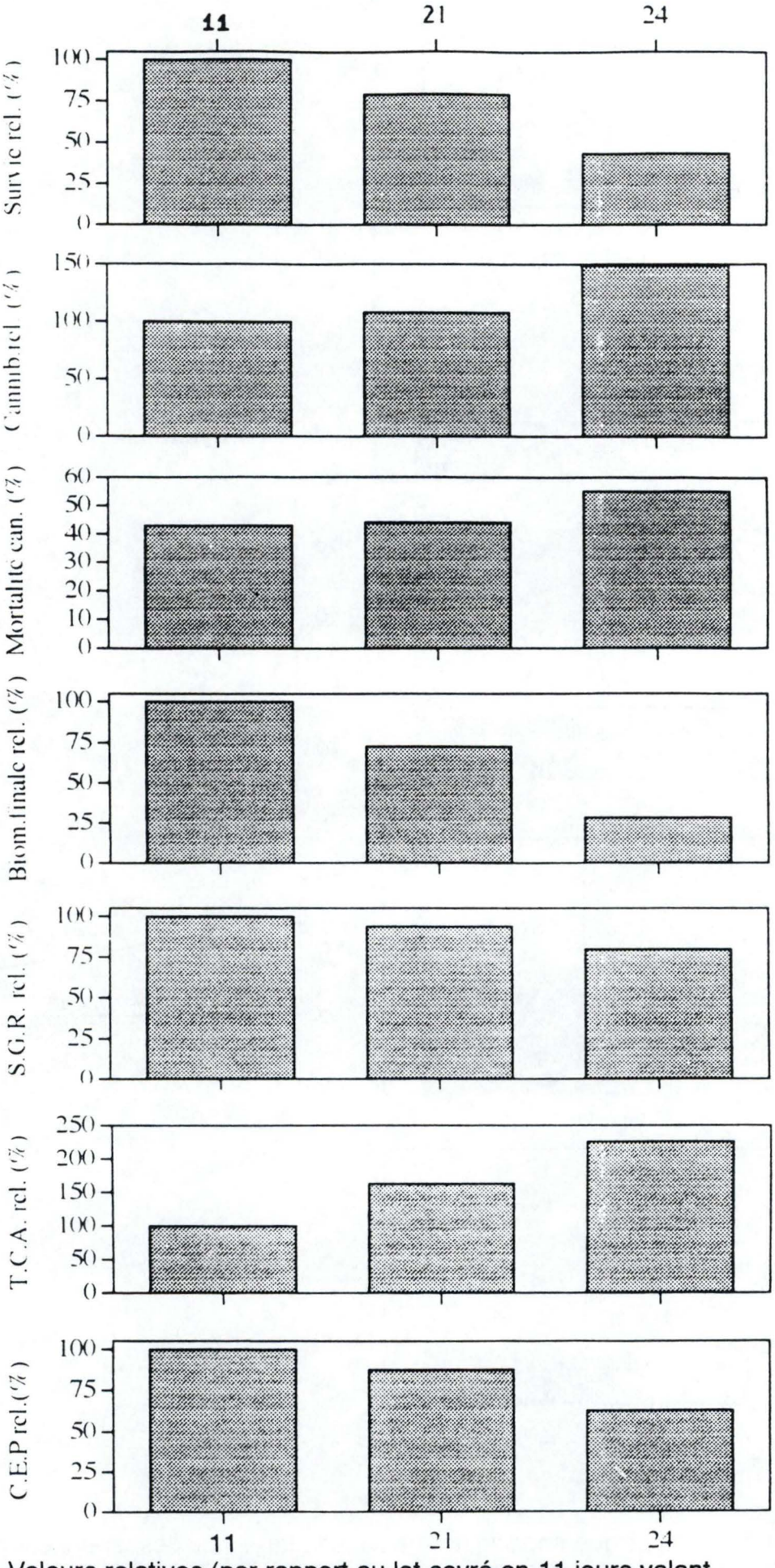
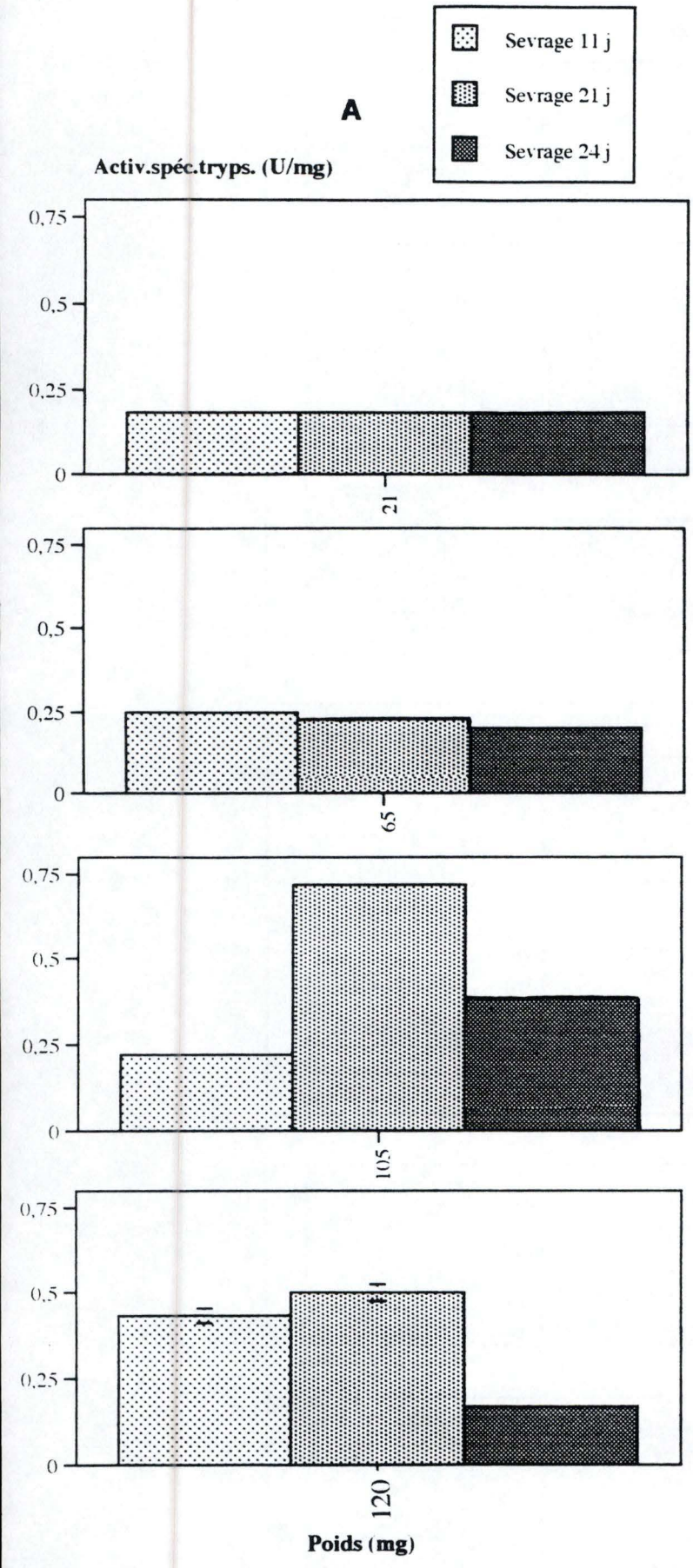


Figure 4.21: Valeurs relatives (par rapport au lot sevré en 11 jours valant arbitrairement 100 %) de la survie réelle, du cannibalisme, de la "mortalité due au cannibalisme" (dans ce cas, simple conparaison entre les lots), de la biomasse finale, du taux de croissance spécifique, du taux de conversion alimentaire et du coefficient d'efficacité protéique, pour les larves de l'expérience 2.



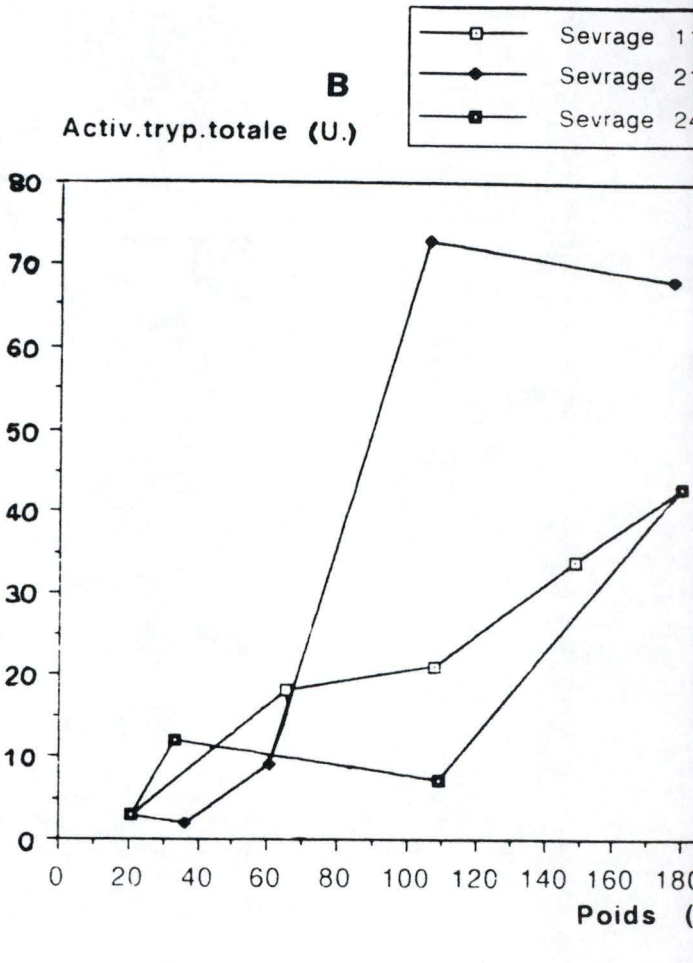


Figure 4.22: **A**: Activité trypsique spécifique relative des larves de l'espérience 2 à des poids moyens différents.
B: Evolution de l'activité totale trypsique du tube digestif entier des larves de l'espérience 2 en fonction de leur poids.

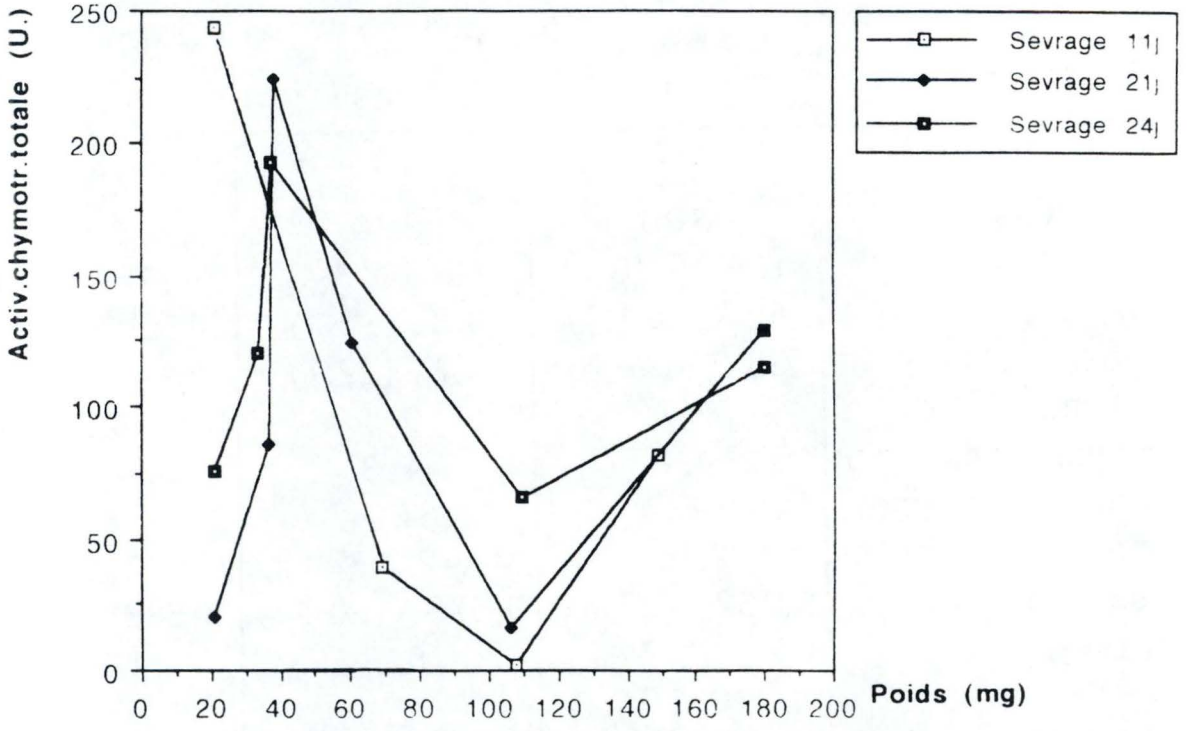


Figure 4.23: Evolution de l'activité totale chymotrypsique du tube digestif entier des larves de l'expérience 2.

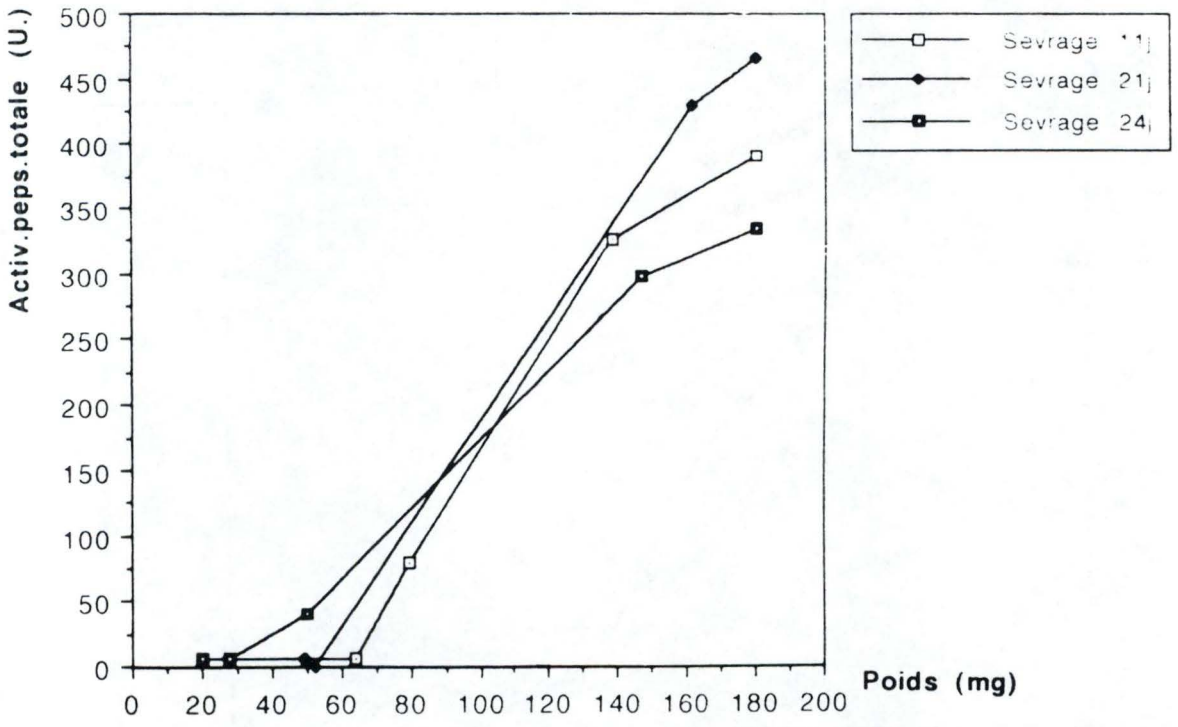


Figure 4.24: Evolution de l'activité totale pepsique du tube digestif entier des larves de l'expérience 2.

Tableau IV 4 Valeurs des paramètres zootechniques lors de l'expérience 3.

	Témoin	Lansy	Seabream
Durée (jour)	22	22	22
Nombre initial	500	500	500
Nombre final	166 (±48,1)	19 (±13,4)	127 (±9,2)
Survie apparente (%)	50,2 (±1,7)	3,8 (±6,4)	46,2 (±1,7)
Survie réelle (%)	33,2 (±9,6)	3,7 (±2,7)	25,4 (±1,8)
Cannibalisme (%)	17	0,1	22
Poids moyen initial (mg)	4,3	4,3	4,3
Poids moyen final (mg)	56,4	30,4	44
Biomasse initiale (g)	2,15	2,15	2,15
Biomasse finale (g)	9,362 (±2,71)	0,578 (±0,41)	5,588 (±0,4)
S.G.R. (%/j)	11,7	8,9	10,6
T.C.A.	2,15	/	5,73
C.E.P.	1,036	/	0,385

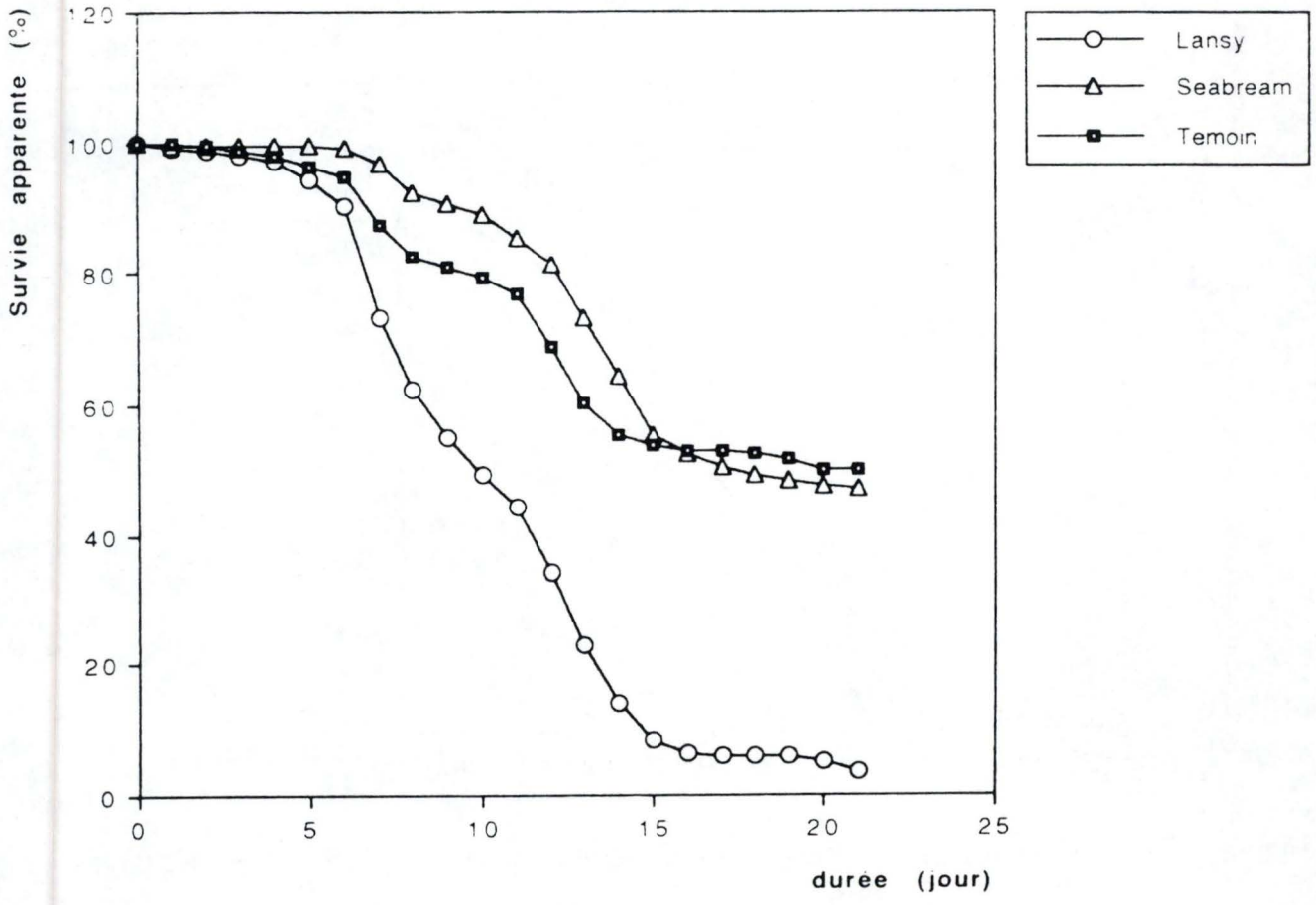


Figure 4.25: Evolution de la survie apparente des larves en fonction de la durée de l'expérience 3.

En ce qui concerne les activités trypsiques totale et spécifique (Fig. 4.22 a et b), nous remarquons que, chez les larves dont la phase de transition a duré 11 jours, l'aliment artificiel fait augmenter ces activités assez régulièrement et longtemps (même après 65 mg, quand on est déjà à 100 % d'aliment artificiel). Remarquons que cela n'a pas mené à une diminution de la croissance. Chez celles dont la phase de transition a duré 21 jours, l'aliment artificiel mène au même effet mais celui-ci apparaît plus tard (seulement quand on est à 90 % d'aliment artificiel). Il est plus intense et cesse quand l'aliment artificiel est le seul composant de la ration des larves. Ceserait à partir de ce moment (soit après ±40 jours) que les larves sont habituées à l'aliment. Cette acceptation progressive de l'aliment artificiel s'exprime par une croissance finale satisfaisante en poids et en longueur (Fig. 4.18 et 4.20). Quant aux larves dont la phase de transition a duré 24 jours, leur activité totale se voit aussi augmentée par l'apport d'aliments artificiels. Cette augmentation est du même ordre que celle des larves dont la phase de transition a duré 11 jours, mais elle est plus tardive. Cependant, leur activité spécifique est aussi acrue, mais relativement peu, et cela est de courte durée (Fig. 4.22 b).

Quant à l'activité chymotrypsique totale (Fig. 4.23), elle montre, pour tous les lots, un pic, entre 20 et 40 mg, qui apparaît d'autant plus tôt que la phase de transition a été plus courte, mais avec des valeurs trois fois plus élevées que chez des larves nourries d'*Artemia* (Fig. 4.14 a). Par la suite, cette activité totale diminue d'autant plus tôt que le sevrage s'est fait plus rapidement. Après 110 mg, quand les larves ne reçoivent plus que de l'aliment artificiel, elle remonte pour atteindre des valeurs plus ou moins identiques à celles des lots témoins.

Pour ce qui est de l'activité pepsique totale (Fig. 4.24), elle commence à s'élever entre 30 et 65 mg, quand l'estomac est fonctionnel. Cependant, cette élévation apparaît plus tôt (avant 65 mg), face aux larves des lots témoins (Fig. 4.16 a), chez les larves dont la phase de transition a duré 21 et 24 jours. Notons justement que vers 30 mg, la croissance des larves, en 24 jours, est meilleure que celle des autres larves, ce qui pourrait être dû à une digestion plus complète chez ces larves, en tout cas, avant 80 mg. L'évolution de cette activité paraît peu logique et moins liée à la durée de la phase de transition que celles des enzymes pancréatiques.

Bien que nous observions des différences dans les activités en fin d'expérience, cela n'est pas mis en évidence par des ANOVA 2 (cf. Annexes III.10, 11, 12, et 15) réalisées pour chaque enzyme. Au contraire, ces analyses révèlent chaque fois une variabilité entre les bassins, pour un même "régime".

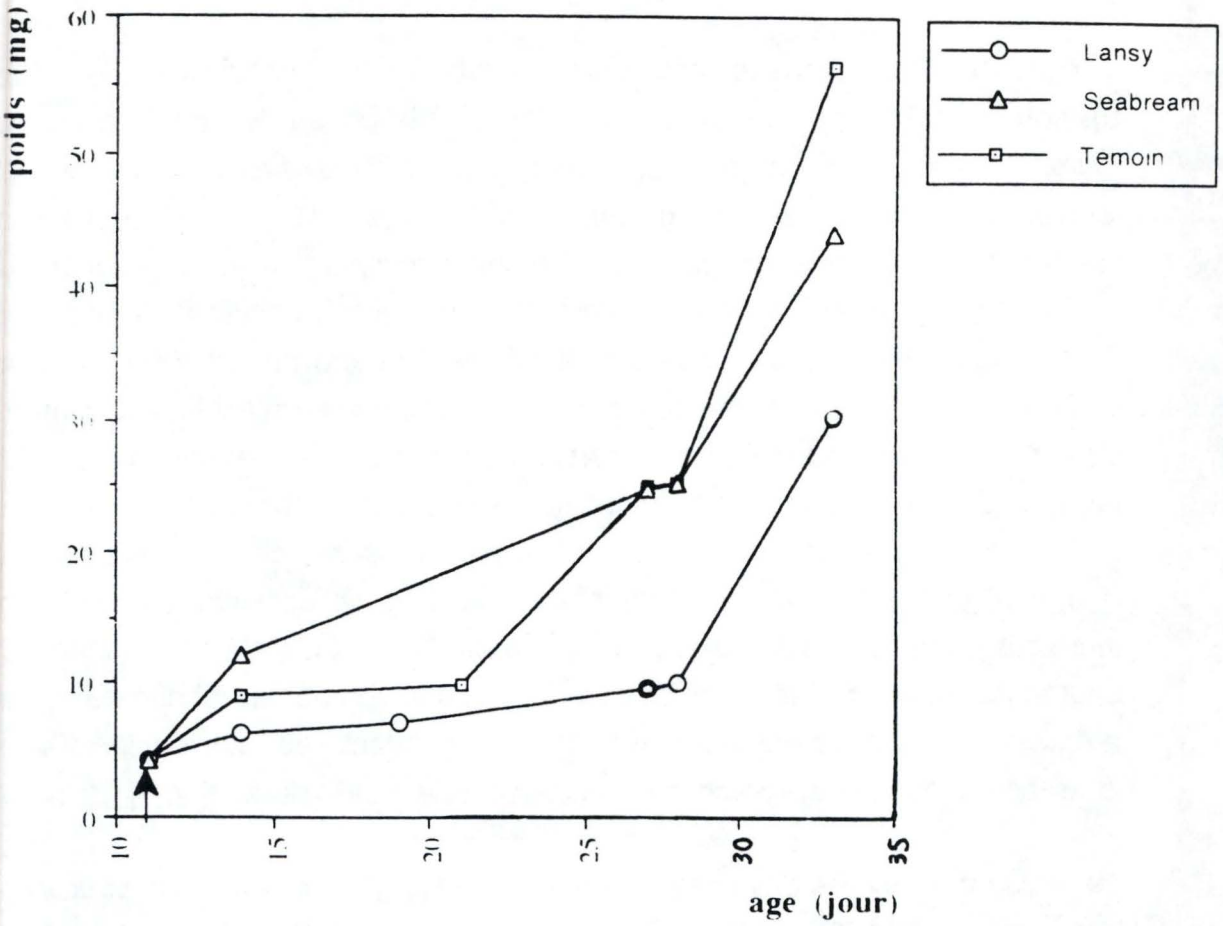


Figure 4.26: Evolution du poids corporel des larves de l'expérience 3 en fonction de leur âge.
Note: la flèche indique le début du sevrage.

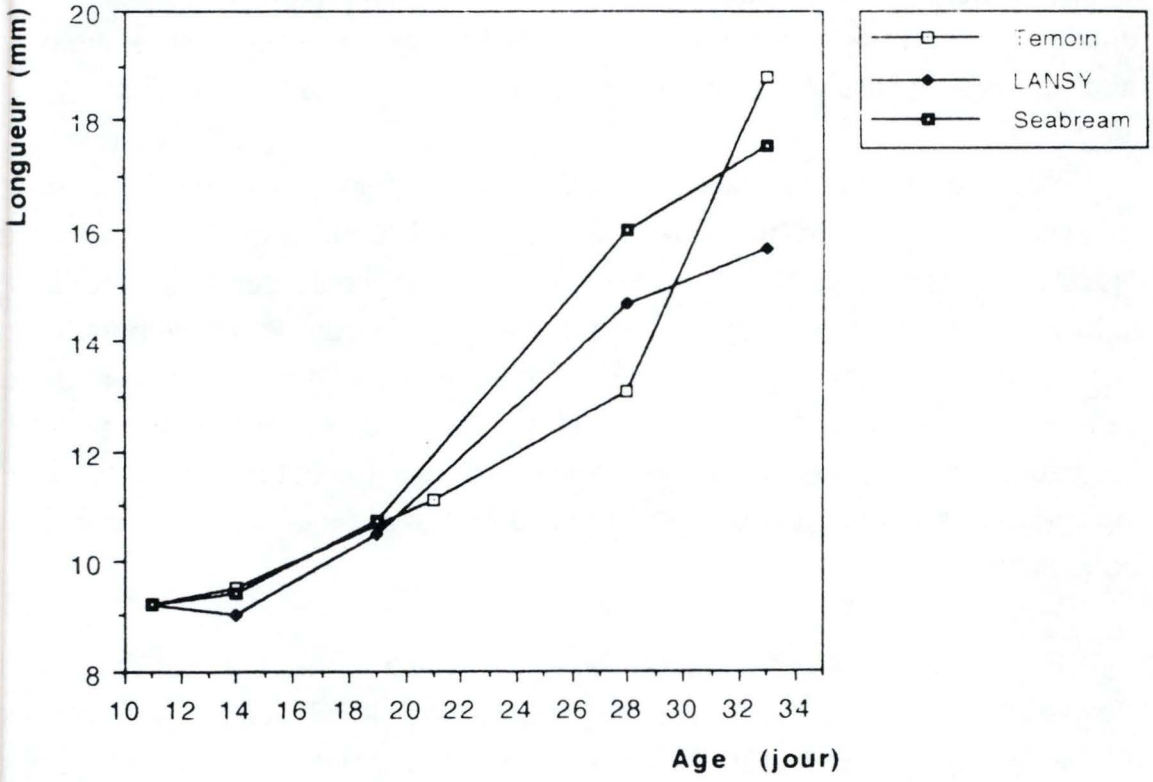


Figure 4.27: Evolution de la longueur des larves de l'expérience 3 en fonction de leur âge.

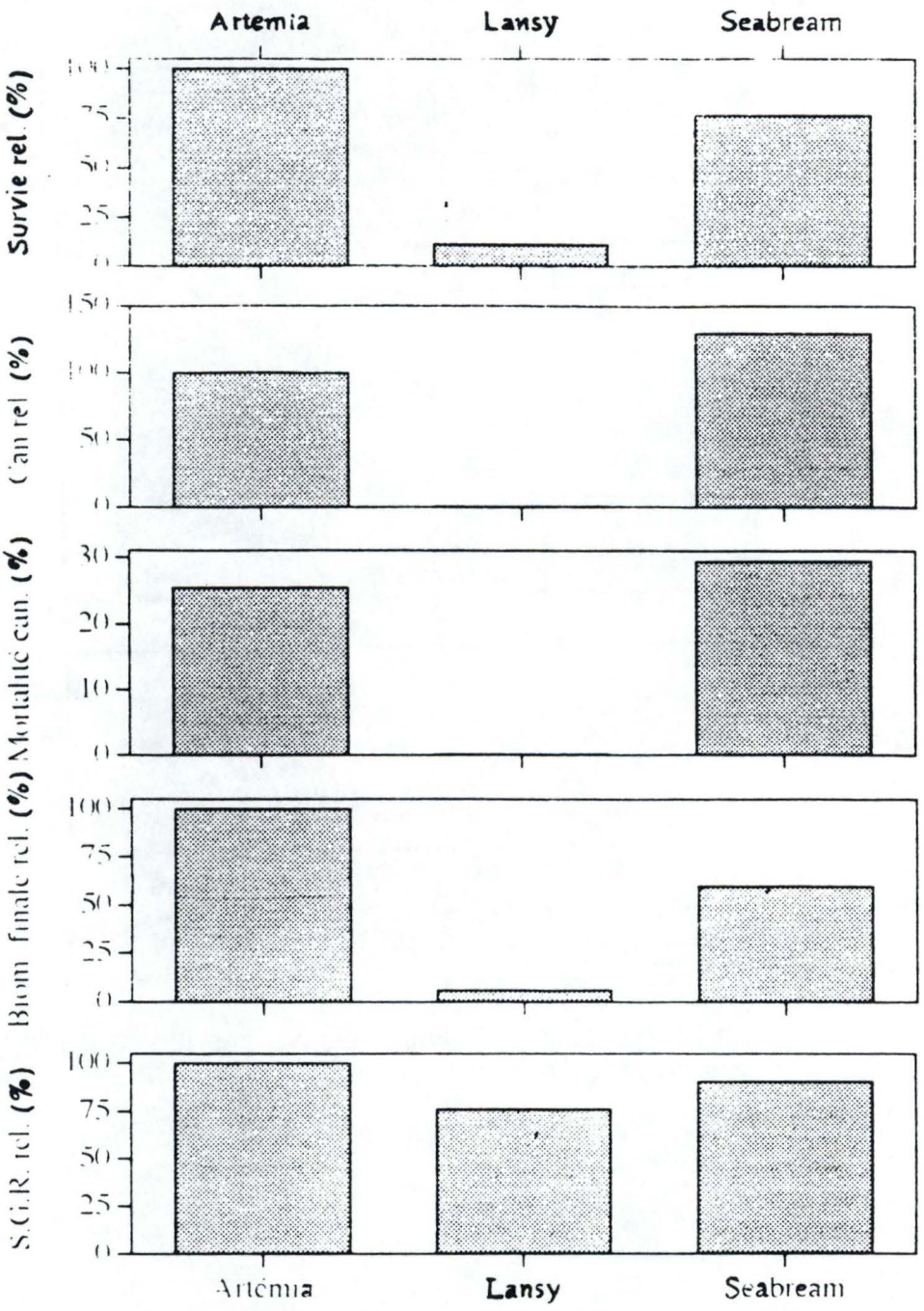


Figure 4.28: Valeurs relatives (par rapport au témoin valant arbitrairement 100%) de la survie réelle, du cannibalisme, de la mortalité due au cannibalisme (dans ce cas, pas par rapport au témoin), de la biomasse finale et du taux de croissance spécifique individuel.

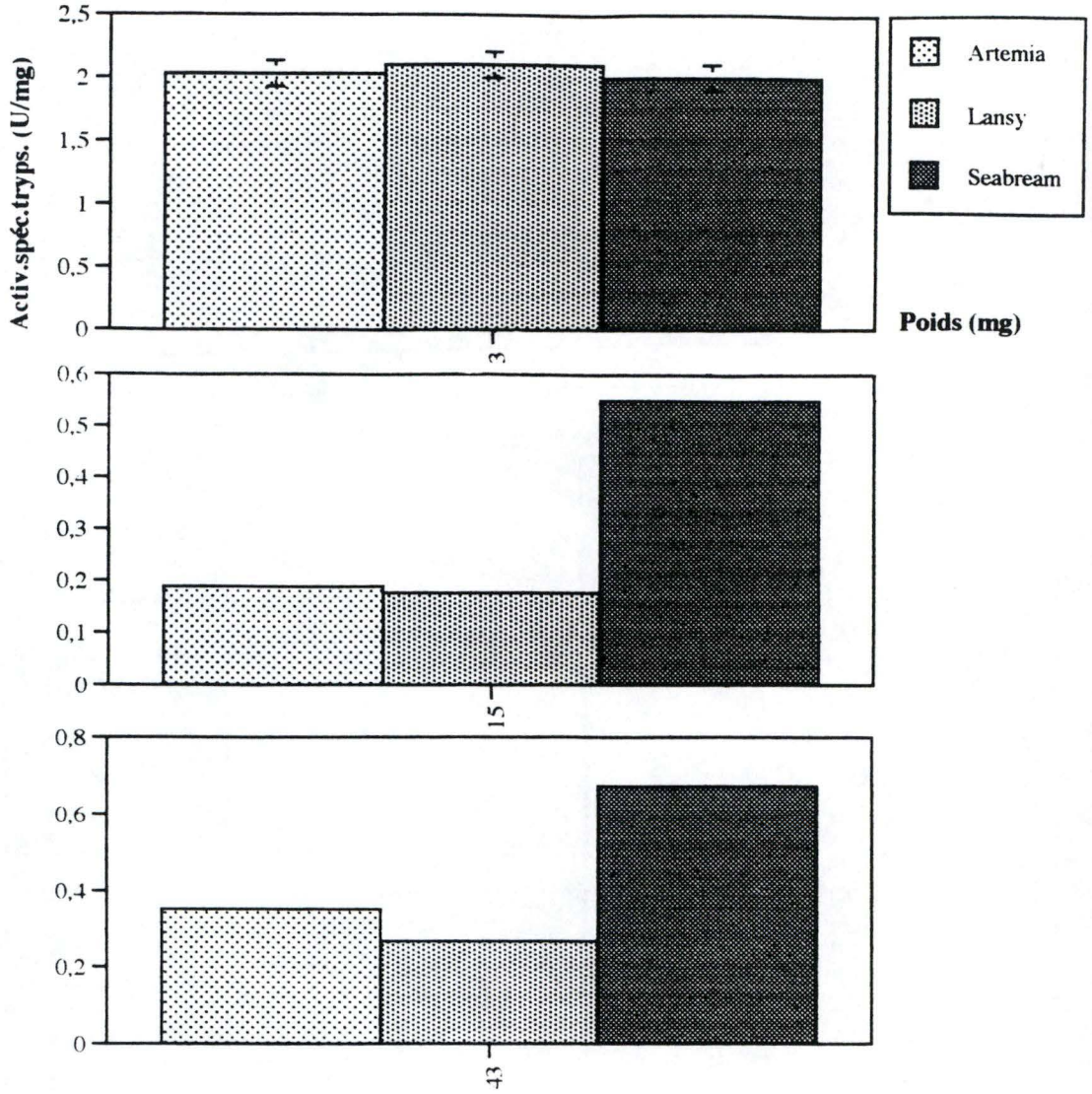


Figure 4.29: Activité trypsique spécifique relative des larves de l'expérience 3 à des poids moyens différents.

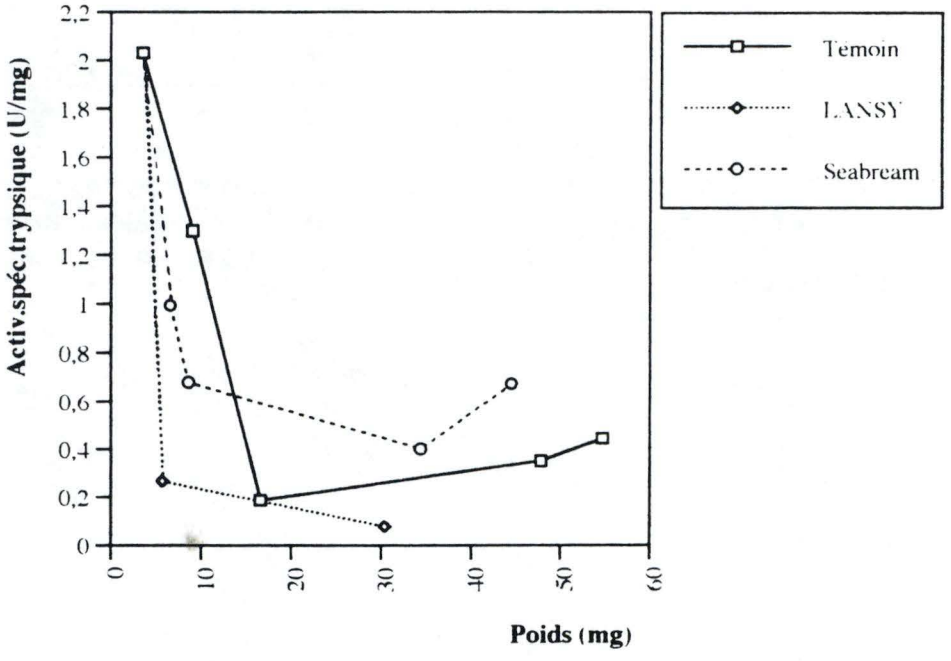


Figure 4.30: Evolution de l'activité trypsique spécifique du tube digestif entier des larves de l'espérience 3 en fonction de leur poids.

4.3. EXPERIENCE TESTANT L'EFFET DE LA NATURE DE L'ALIMENT ARTIFICIEL (Tableau IV.4)

4.3.1. Evolution des critères zootechniques (Tableau IV.4)

Comme dans la deuxième expérience, nous ne ferons que citer les valeurs des paramètres physico-chimiques, car ils se situent dans les normes. De fait, la température et les concentrations moyennes en O_2, NO_2^- et NH_3, valent, respectivement, 20,5°C, 6 mg/l, 0,12 mg/l et 0,0085 mg/l.

Lorsque nous regardons les valeurs finales, ou l'évolution parfois, des survies réelle et apparente (Fig. 4.25), des croissances en poids (Fig. 4.26) et en longueur (Fig. 4.27), la biomasse finale (Fig. 4.28 et cf. Annexe III.18), les S.G.R. individuel et "biomasse", le T.C.A. et le C.E.P., nous remarquons que c'est toujours le lot témoin (bien qu'une ANOVA 2 ne perrmette pas de le montrer pour la biomasse finale, cf. Annexe III.6) qui montre les meilleures performances et le lot sevré sur LANSY, les moins bonnes

En observant plus précisément la Fig. 4.28, nous remarquons que, chez les larves sevrées avec du LANSY, le très petit taux de cannibalisme provient du fait que la survie est faible chez ce lot (6 % de celle du lot témoin). Cependant, en ce qui concerne le S.G.R. de ce lot, il n'est quand même pas si mauvais puisqu'il vaut 76 % de celui du lot témoin. Pour les larves nourries de Seabream, il est très satisfaisant, car il ne diffère que de 9,4 % avec le lot témoin.

Grâce à ces résultats, nous constatons que, des 2 aliments artificiels testés, c'est le Seabream qui est meilleur, face au LANSY. Cependant, bien que les performances qu'il permet d'atteindre soient assez proches de celles du lot témoin, il n'est pas complètement adéquat pour les larves de perche, car la biomasse finale qu'il permet d'obtenir vaut seulement 60 % de celle du lot témoin.

4.3.2. Evolution des activités enzymatiques

Les activités trypsiques (Fig. 4.29, 4.30 et 4.31) totale et spécifique sont plus élevées chez le lot sevré sur du Sebream, moyennes chez celui nourri d'*Artemia*, et plus basses chez le lot sevré sur du LANSY. Grâce aux Fig. 4.29 et 4.30, nous remarquons qu'avant le sevrage (débuté à 4,3 mg), les activités spécifiques sont

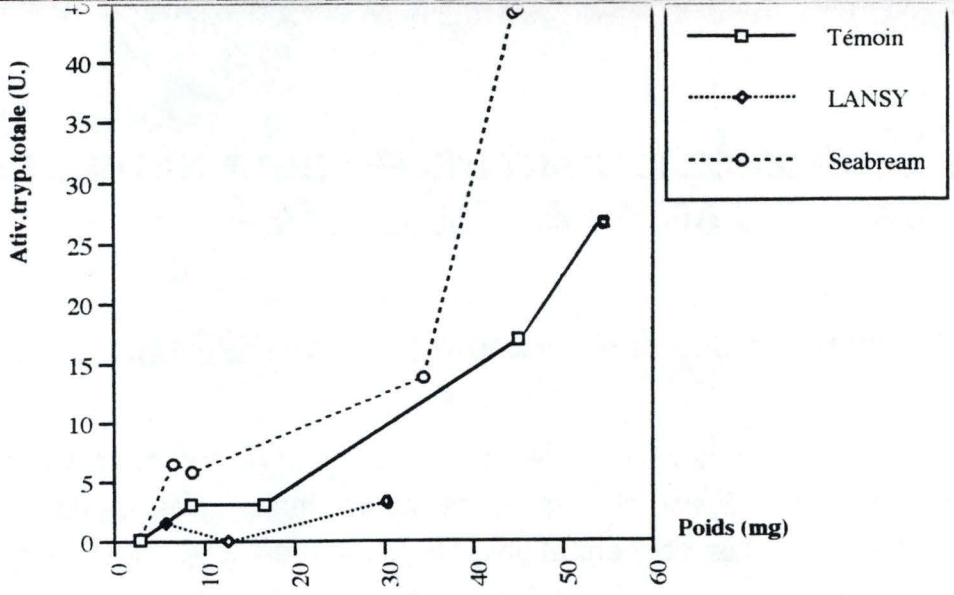


Figure 4.31: Evolution de l'activité trypsique totale du tube digestif entier des larves de l'espérience 3 en fonction de leur poids.

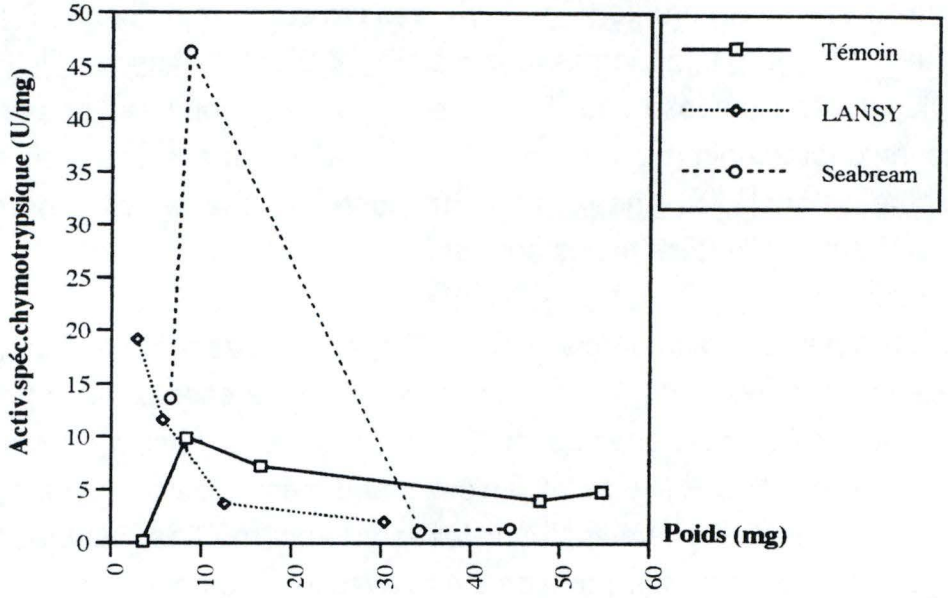


Figure 4.32: Evolution de l'activité chymotrypsique spécifique du tube digestif entier des larves de l'espérience 3 en fonction de leur poids.

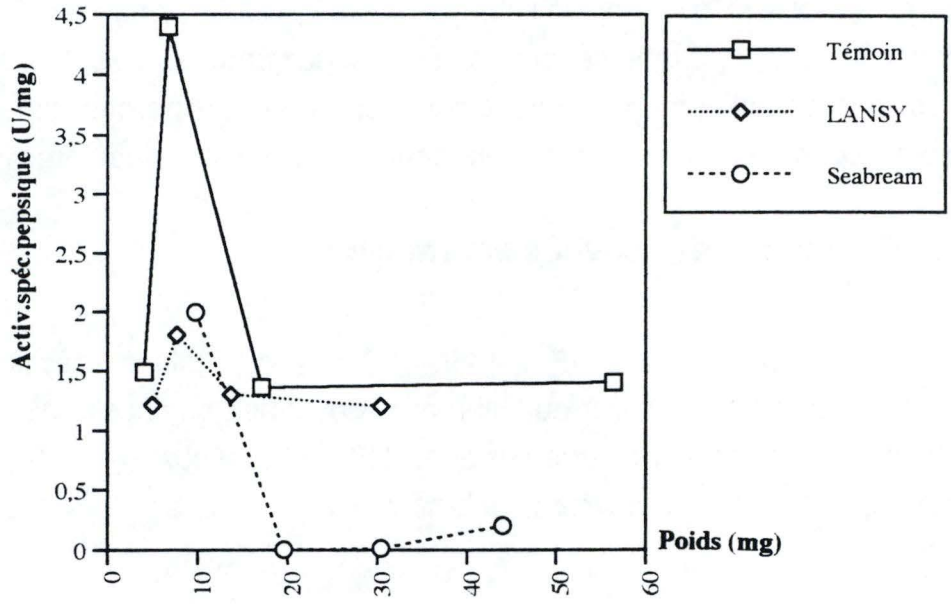


Figure 4.33: Evolution de l'activité pepsique spécifique du tube digestif entier des larves de l'espérience 3 en fonction de leur poids.

semblables, comme c'était le cas lors de l'expérience 1. Suite au sevrage, l'activité diminue, et cela, plus rapidement chez les larves sevrées, surtout avec celles qui le sont avec du LANSY. Vers 15 mg, les larves-témoins et celles qui sont nourries de LANSY (100 % atteint vers 100 mg) ont une activité identique, contrairement à celles qui sont alimentées avec du Seabream et qui montrent une activité plus forte. Par la suite, cette activité diminue encore chez les larves nourries avec des aliments artificiels, avec la même pente pour les 2 types d'aliments, mais pas chez celles qui ont des *Artemia* comme aliment. Au contraire, chez ces dernières, elle augmente jusqu'au moins 55 mg. Cette augmentation s'observe aussi chez les larves se nourrissant de Seabream, vers 35 mg, bien après que les larves soient sevrées (depuis 25 mg).

En ce qui concerne la chymotrypsine (Fig. 4.32), nous remarquons que son activité spécifique diminue avec le poids des larves seulement dans le cas du lot témoin. Par contre, chez les larves en sevrage, elle montre un pic qui est plus élevé dans le cas des larves sevrées avec du Seabream. En fin d'expérience, son activité est plus basse chez les larves sevrées que chez le lot témoin.

Pour ce qui est de la pepsine (Fig. 4.33), elle a une activité spécifique qui montre un pic entre 8 et 10 mg (quand l'estomac est présent), qui est plus élevée seulement chez le lot témoin. Par la suite, cette activité retrouve une valeur identique à celle mesurée au tout début du sevrage, sauf chez le lot de larves sevrées avec du Seabream.

Comme dans l'expérience précédente, cela n'est pas mis en évidence par des ANOVA 2 (cf. Annexes III 8, 8*, 9 et 13), réalisées pour chaque enzyme. Au contraire, ces analyses révèlent chaque fois une variabilité entre les bassins, pour un même "régime".

Quantitativement, les valeurs moyennes de ces activités sont du même ordre que celles des témoins, sauf pour la chymotrypsine dont l'activité leur est inférieure. Au niveau qualitatif, la similarité de l'évolution de l'activité pepsique chez le lot témoin et chez celui sevré sur LANSY, ainsi que le niveau bas de l'activité trypsique de ce dernier lot, montrerait que, chez ces larves, l'ingestion d'aliments artificiels ne mène pas à une augmentation des activités, face aux *Artemia*, contrairement au lot sevré avec du Seabream, en ce qui concerne les activités pancréatiques. Globalement, l'évolution de l'activité de ces enzymes n'est pas reliée à des changements dans la croissance des larves.

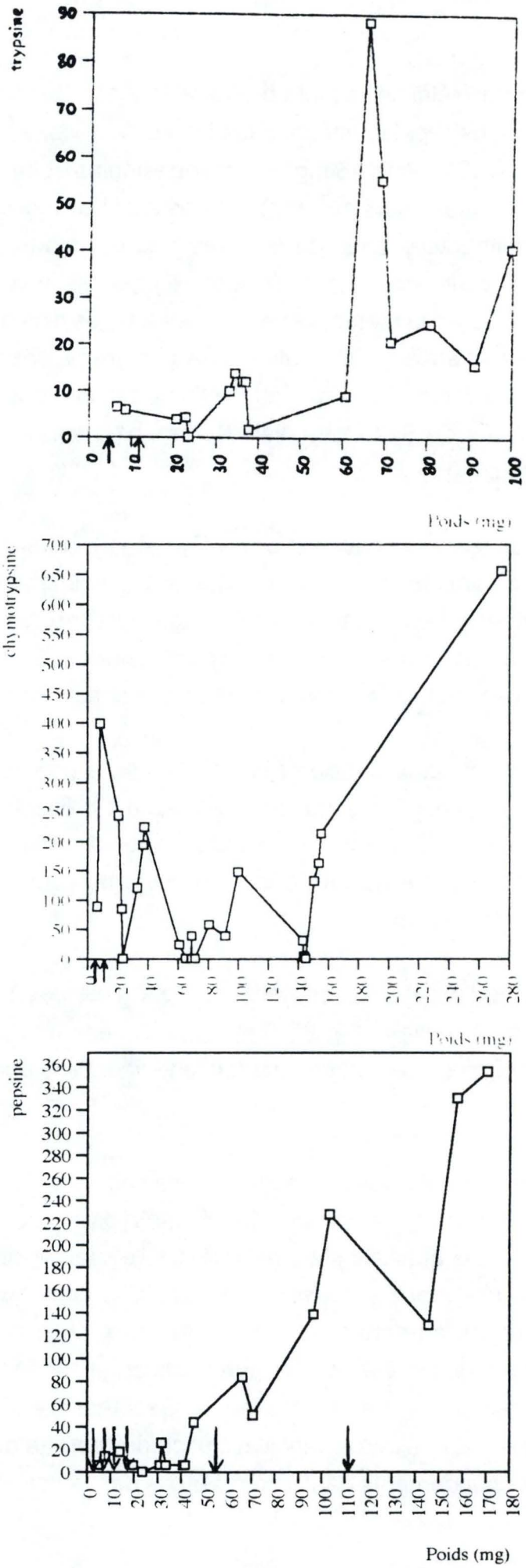


Figure 4.34: : Evolution des activités totales du tube digestif entier de larves sevrées;
A: pour la trypsine (avec du Seabream).
B: pour la chymotrypsine (avec du Seabream).
C: pour la pepsine (avec du LANSY).

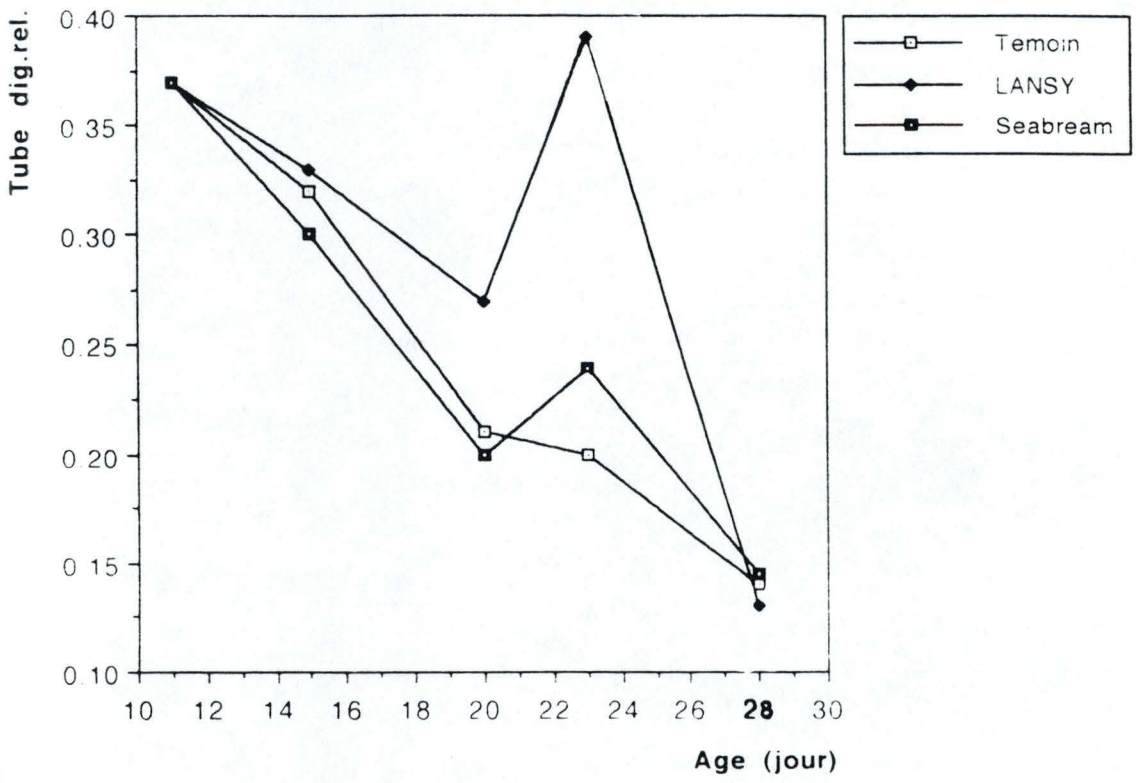


Figure 4.35: Evolution du rapport "poids du tube digestif/poids corporel des larves" en fonction de l'âge de larves nourries d'*Artemia*, de LANSY ou de Seabream.

4.4. EFFET GLOBAL D'UN ALIMENT ARTIFICIEL

Afin de connaître le véritable effet d'un aliment artificiel sur les activités enzymatiques, nous avons rassemblé les résultats de plusieurs expériences dans lesquelles un même aliment a été utilisé pour le sevrage. Ainsi, grâce à la Fig. 4.34 a, nous remarquons que les trois pics d'activité totale trypsique, à 35, 65 et 100 mg apparaissent quand on atteint, respectivement 100 %, 90 % et 100 % d'aliment artificiel (Seabream, ici) dans la ration des larves de perche. Si nous regardons quand les différents sevrages ont commencé (voir flêches sur la Fig. 4.34 a), nous constatons qu'après le début du sevrage, l'activité diminue puis montre des pics quand l'aliment artificiel prend une part importante dans la ration. En comparant la Fig. 4.34 a à la Fig. 4.15 a, nous voyons que le premier pic n'est pas dû à l'aliment artificiel, car il s'observe aussi chez les témoins. Par contre, les deux autres pics, plus élevés et plus brusques, ont sûrement pour origine l'effet de l'aliment artificiel.

La Fig. 4.33 b nous montre que l'activité chymatrypsique totale répond de la même manière mais moins souvent à la présence d'aliment artificiel (ici, Seabream) dans la ration. En effet, les pics à 40 et 100 mg pourraient être dû à l'aliment artificiel (car 100 % de Seabream est atteint une fois à 37 mg et l'autre fois à 99 mg) mais ils sont aussi présents (surtout le premier des deux) chez les témoins (Fig. 4.16 a). Donc, ici, seul le premier pic serait vraiment dû à l'aliment artificiel, car les sevages débutent à ce moment (voir flêches sur la Fig.). Ces observations montreraient qu'il y a une augmentation de l'activité chymotrypsique les premières fois que le poisson ingère de l'aliment artificiel mais pluq par après, la trypsine et/ou la pepsine prenant le relais.

En ce qui concerne la pepsine (Fig. 4.34 c), l'aliment artificiel (LANSY, ici) aurait aussi tendance à faire augmenter son activité totale, mais cela est moins marqué avec cet enzyme. De fait, les pics observés à 68 et 100 mg ne sont pas représentés chez les témoins (Fig. 4.17 a) et apparaissent après les différents sevrages commencés à 4,3, 10,7, 12,7, 17,9 et 56,4 mg. Notons que le sevrage débuté à 112 mg ne déclenche pas de pic mais plutôt une petite chute de cette activité. Cela prouverait ses meilleures performances, face aux autres périodes de sevrage.

Tableau IV.5: Activités enzymatiques totales du tube digestif de larves avant et après nourrissage (selon le rapport poids du tube digestif/poids corporel).

Aliment	t.d./cps.	trypsine	chymotr.	pepsine	t.d./cps.
Artemia (avant)	0,05	7,2	42,1	6,0	0,05
Artemia (après)	0,49	11,7	131,9	24,3	0,16
LANSY (avant)	0,02	15,5	70,1	13,9	0,02
LANSY (après)	0,18	18,4	143,5	24,8	0,15

Aliment	t.d./cps.	trypsine	chymot.	pepsine
Artemia	0,05	7,2	42,1	6,0
LANSY	0,02	15,5	70,1	13,9
Seabream	0,05	21,1	58,5	40,1
zooplanct.	0,07	40,4	85,5	48,5

Tableau IV.6: Activités enzymatiques totales de larves à jeun (selon le rapport poids du tube digestif/poids corporel).

Cependant, quand nous examinons la Fig. 4.35 relative à la troisième expérience, nous voyons que ce serait plutôt l'aliment artificiel LANSY qui est mieux ingéré, face aux *Artemia* et à l'autre aliment (Seabream), du moins, jusque 27 jours après l'éclosion, la situation s'inversant par la suite. Cependant, ce phénomène se marque surtout entre 19 et 27 jour, quand l'alimentation est mixte (50/50). Ce seraient donc à la fois les aliments artificiels et vivants qui seraient mieux ingérés, et pas forcément l'aliment artificiel. Or, ce type d'alimentation mène justement à une meilleure croissance en longueur chez les larves (Fig. 4.27).

Quant au zooplancton (cf. larves de l'étang), il paraît moins souvent ou moins abondamment ingéré mais cela est peut-être irréaliste, car le nombre de larves examinées ici (5) est fortement inférieur à celui des larves analysées dans les trois autre cas (± 25). De fait, ce lot élevé en étang enregistre une très bonne croissance mais il montre des pics d'activités pepsique et chymotrypsique (Fig. 4.14 a et b) plus élevés et un peu plus larges que dans le cas du lot de larves nourries d'*Artemia* en conditions intensives.

Voyons à présent l'effet d'un aliment artificiel sur la différence d'activité enzymatique totale "avant/après nourrissage" (Tabeau IV.5) ainsi que sur les activités totales de larves de mêmes poids moyens, à jeun (Tableau IV.6).

Nous constatons avec le premier de ces deux tableaux que l'aliment artificiel (ici, LANSY) provoque une augmentation de l'activité enzymatique face aux*Artemia*, ce qui confirme bien nos résultats précédents. Cette augmentation après le nourrissage est d'une plus petite amplitude qu'avec l'aliment vivant mais cela est dû au fait que l'activité chez les larves sevrées qui sont à jeun est déjà plus élevée que chez celles nourries d'*Artemia*. Le deuxième tableau nous livre que l'aliment artificiel (Seabream encore plus que LANSY) fait régner plus longtemps (car les larves à jeun ont une activité asez élevée) une activité relativement élevée dans le tube digestif des larves que l'aliment vivant. Il nous montre aussi que les larves se nourrissant de zooplancton ont une activité plus élevée que les autres larves, même quand leur tube digestif est moins rempli.

V. DISCUSSION

V. DISCUSSION

5.1. ANALYSE DE CONDITIONS ENVIRONNEMENTALES ET DE CRITERES ZOOTECHNIQUES LORS DE TROIS TYPES D'ELEVAGE

5.1.1 EVOLUTION DES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES ET DE FACTEURS ASSOCIES

5.1.1.1 Lors de l'élevage en conditions extensives

Rappelons d'abord que l'interprétation de cette évolution est très délicalte, vu le nombre de facteurs abiotiques et biotiques interagissant.

En ce qui concerne la température, les petites augmentations que nous avons observées doivent être dues à des périodes d'ensoleillement prolongées. Quant à la concentration en oxygène, des deux chutes enregistrées, la première pourrait être due à un mauvais mélange de l'eau (absence de grands vents) et, la seconde, à des températures de l'eau élevées et à une forte biomasse phytoplantique. Remarquons à ce sujet que, les mesures ayant été prises entre 9 heures et 11 heures, les concentrations ont pu être beaucoup plus basses en fin de nuit et être de ce fait néfastes pour nos larves. Dans le cas de l'ammonium, les fluctuations de plus grande amplitude de sa concentration seraient dues à des apports endogènes (décomposition d'organismes morts et recyclage) et au fait que la dissolution de l'engrais utilisé est plus rapide que dans le cas des phosphates. En fait, les concentrations en NH_4+ et en PO_4^{3-} sont simplement suffisantes pour maintenir une production primaire raisonnable et pour ne pas provoquer de trop gros blooms phytoplanctoniques finalement néfastes (cf. captation de l'O_2 la nuit et parfois production de substances toxiques).

Pour ce qui est du zooplancton, il semble présent au moment adéquat pour les larves de perche et n'a donc pas dû être un facteur limitant. L'augmentation du nombre de cladocères et de copépodes seulement après 60 jours suivant la mise en charge serait due au fait que les larves de perche devenues carnivores et/ou cannibales à ce moment (poids moyen de 1 g) les dénigrent de plus en plus,

comme c'est le cas pour les rotifères, après le 50ème jour, quand les larves ont un poids moyen de 350 mg.

5.1.1.2. Lors des élevages en conditions semi-intensives et intensives

Dans le cas de l'élevage en bassins-bâches, les conditions physico-chimiques ont été favorables aux larves de perche, sauf pour ce qui était des concentrations en NH_3 et en NO_2^-.

Par contre, la très faible concentration en rotifères (proche de 0, contrairement à 90 individus par litre au même moment dans notre étang) 5 jours après l'éclosion des larves de perche a pu être limitante. Ce manque d'aliment naturel a toutefois été largement compensé par l'apport de nauplii d'*Artemia*, dont la taille était compatible avec l'ouverture buccale des perches après quelquec jours.

Pourtant, ces dernières n'ont pas provoqué de mortalités intenses. En ce qui concerne l'élevage intensif, c'étaient les concentrations en O_2 et en NO_2 qui laissaient à désirer, mais elles n'ont probablement pas diminuer la survie de nos larves puisque leurs variations étaient trop petites.

Pour le NO_2, cela est dû au fait que nous avons dû travailler en circuit fermé et que le filtre biologique n'était pas toujours complétement efficace. Dans le cas de l'oxygène, la faible concentration fut la conséquence d'un compromis; il fallait à la fois augmenter l'aération de l'eau dans les bacs d'élevage (et de filtration) et veiller à ne pas trop déranger les larves confinées dans un petit volume avec le bullage.

5.1.2. EVOLUTION DES CRITERES ZOOTECHNIQUES

5.1.2.1. Lors de l'élevage en conditions intensives

Cet élevage a montré des résultats très satisfaisants. En effet, la croissance en poids et en longueur de ce lot de larves est supérieure (poids moyen final de 1,641 g au lieu de 0,85 et 60 mm au lieu de 38 mm, comme longueur moyenne

finale) à celle enregistrée en 1993 par MELARD et KESTEMONT (1994) qui travaillèrent dans les mêmes étangs, mais avec une densité initiale de larves double de la nôtre. Elle dépasse aussi la croissance rapportée par DABROWSKI et alii (1992) qui les éleva pourtant dans de meilleures conditions thermiques (Ohio, USA). En terme de taux de survie, la performance est similaire à celle observée par MELARD et KESTEMONT, en 1994, et à celle obtenue avec la perchaude, par MALISON (Com. pers.), lorsqu'il gérait bien la productivité naturelle.

La production de cet étang (67.500 poissons/ha) est dans la gamme de celle obtenue par des perchaudes et des walleyes (50.000 à 150.000 poisson/ha) et pour une taille de récolte similaire, par des chercheurs du Wisconsin (KESTEMONT, Com. pres.).

Cette bonne productivité doit être due à la nourriture vivante et naturelle (zooplancton et/ou poissons) qui est présente dans l'étang, souvent en bonne quantité. A ce sujet, la chute de la concentration en rotifères n'est pas uniquement due à la prédation par les larves de perche pour deux raisons majeures: d'abord, la densité des prédateurs semble insignifiante face à celle des proies; ensuite, MELARD et KESTEMMONT (1994) observèrent, en 1993, une chute similaire dans un étang exempt de larves de perches, à la même époque. Par contre, après ± 58 jours suivant la mise en charge de l'étang, quand les larves ont une longueur supérieure à 40 mm et qu'elles mangent plus souvent des larves de chironomidés et des poissons (GUMA'A, 1978), la remontée de la concentration en rotifères semble liée au comportement alimentaire des perches.

5.1.2.2. Lors de l'élevage en conditions semi-intensives

Les larves élevées en bassins-bâches ont montré une croissance moyenne, inférieure à celle des larves de l'étang, 37 jours après l'éclosion. Cependant, si l'on compare ce résultat à celui observé par MELARD et KESTEMONT (1994), dans les même étangs, avec une alimentation similaire et 44 jours après l'éclosion, à une même densité (1000 individus/m^2), nous constatons, que le poids moyen atteint par ces larves vaut seulement 60,4 % de celui obtenu dans l'expérience citée.

En ce qui concerne la survie réelle des larves, elle paraît supérieure à celle des larves produites dans l'étang, à la fois cette année et en 1993 (MELARD et KESTEMONT (1994). Ainsi, lorsqu'on parle en terme de biomasse, la performance atteinte par ces larves est très satisfaisante, comparée aux autres types d'élevage larvaire. De ce fait, MELARD et KESTEMONT (1994) ont testé différents systèmes d'élevage larvaire chez la perche et sont arrivés à la conclusion que le système le plus approprié tant au point de vue de la croissance et de la survie que du sevrage des poissons était le bassin-bâche préalablement fertilisé, l'aliment naturel (rotifères) disponible en quantité au début de la phase larvaire étant progressivement remplacé par des *Artemia* dans un premier temps et par de l'aliment artificiel par la suite.

5.1.2.3. Lors de l'élevage en conditions intensives

En ce qui concerne notre lot témoin où les larves ne furent nourries que l'*Artemia*, nous constatons qu'à un âge de 7 jours, elles avaient un poids moyen de 2,8 mg, ce qui est supérieur au poids moyen enregistré par les larves de MELARD et KESTEMONT (1994). Indiquons la nécessité de démarrer dans de grands bassins de maniére à éviter les mortalités presque totales observées dans des bassins de petite taille. Nous pouvons donc conclure que notre lot témoin était dans de bonnes conditions d'élevage.

Pourtant, après le transfert dans les bassins d'élevage, nos larves ont adopté un comportement spécial mais pas néfaste pour elles. En effet, nous les avons observées au binoculaire et avons remarqué que leur tube digestif était rempli et que leur vessie natatoire était gonflée. Rappelons au sujet de cette dernière observation, que, chez les walleyes plus particulièrement, le mauvais gonflement de cette vessie entraîne des problèmes importants lors de l'élevage intensif (LOADMAN et alii, 1989).

L'analyse des performances des larves sevrées sera examiné dans le paragraphe suivant et, concernant l'ensemble de nos larves, nous n'avons pas constaté de tendances spéciales. Néanmoins, notons que vers 11 jours après l'éclosion, chez le lot sevré à 7 mg, la survie apparente a diminué plus vite. Cela pourrait être dû au fait que, à ce stade de développement, le tube digestif se replie sur lui-même et peut engendrer un baisse de la survie, comme c'est le cas chez le sandre (CEMAGREF, 1993).

Quand nous avons sevré nos larves nous avons constaté par rapport aux larves nourries d'*Artemia* une baisse de la survie et de la croissance qui s'amplifiait lorsque le sevrage était commencé de plus en plus tôt. BERGOT et alii (1986) expliquent ces moins bonnes performances des larves nourries d'aliments artificiels par le fait que ceux-ci changent les interactions entre l'animal et son milieu et le perturbent donc fortement. Cette différence entre aliments vivants et artificiels pourrait aussi résulter du fait que les aliments artificiels ont un contenu protéique égal ou supérieur aux *Artemia* mais un contenu en lipides (acides gras essentiels) souvent inférieur (± 2 fois moins), selon GOVONI et alii (1986).

De plus, un test d'appétence a montré qu'après 1, 3, 5 et 7 jours après l'éclosion, 45, 60 et 100 %, respectivement, des larves de perhce ingéraient des *Artemia* vivants (GREGOIRE, 1992 et MELARD et KESTEMONT, 1993). Ces mêmes auteurs ont aussi démontré que la survie des larves de perche était meilleure avec des rotifères qu'avec des *Artemia*, lorsque ces aliments étaient donnés très tôt aux larves. D'ailleurs, rappelons qu'à leur naissance, l'ouverture de la bouche des larves est de 150-250 µm, c'est-à-dire inférieure à la taille des *Artemia* (± 500 µm) mais supérieure à celle des rotifères (60 à 100 µm).

Selon notre première expérience, nous avons trouvé qu'un sevrage à un poids moyen inférieur à 112 g, en 4 jours, donnait des résultats qui s'éloignaient trop de ceux du témoin, tant en termes de survie qu'en termes de croissance. Ainsi, le meilleur poids se situe probablement au-delà de 112 mg. N'oublions pas non plus que l'aliment artificiel (LANSY) que nous avons utilisé ici n'était pas le mieux adapté aux larves. Ainsi, un autre aliment artificiel d'une meilleure qualité (ex.: Seabream) permettrait sans doute d'abaisser le poids adéquat au sevrage. Notons qu'un autre facteur important intervient aussi ici, c'est la densité de larve dans le bassin. En effet, si cette densité est inadaptée, il peut se développer un fort cannibalisme (stressant) et cela peut mener à une mauvaise acceptation de l'aliment artificiel.

A ce sujet, MARY (1994) a constaté, lors d'un élevage larvaire en bassins-bâches fertilisés de 10 m^2 qu'une augmentation de la densité de peuplement induisait une meilleure croissance et un taux de survie plus élevé mais un cannibalisme accru. Dans notre cas, l'émergence de larves cannibales peut être due au petit volume des bassins d'élevage (les prédateurs se trouvent ainsi à proximité de leurs proies) et au fait que les larves acceptant plus vite l'aliment artificiel auront une croissance plus rapide et pourront se nourrir des autres larves.

Notons aussi que l'aliment vivant n'a pas réduit le cannibalisme à un taux très faible, comme HECHT et PIENAAR (1993) l' avaient remarqué.

En ce qui concerne précisément le meilleur moment pour sevrer des larves de perche, les auteurs ne sont pas unanimes. Pour des larves de perchaude élevées en étang, selon DABROWSKI (1994), un taux d'habituation à un aliment artificiel de 75-85 % peut-être atteint si le sevrage est réalisé à une longueur totale des larves de 35-45 mm (équivalent à 450 et 925 mg chez la perche). Selon BEST (1982, cité par DABROWSKI 1994) ,ce taux est inférieur à 50 % si la longueur au sevrage est inférieure à 15 mm (= ± 25 mg), lorsqu'on travaille dans de petits aquariums à faible densité. Pour HEIDINGER et KAYES (1986), à des longueurs de 13 mm, 16 mm, supérieures à 18 mm (± 70 mg) et supérieures à 32 mm (± 320 mg), les survies valent, respectivement 38 %, plus de 50 % et 98 %. Plus récemment, des chercheurs américain (MALISON et HELD, 1992, cité par DABROWSKI 1994) ne purent pas montrer de différences significatives pour les taux d'habituation de larves sevrées à des longueurs de 16,9, 32,5 et 42,6 mm. En conditions intensives, dans de petits bassins, MANSUETI (1964) trouva 13 mm (± 19 mg et 19 jours) comme taille minimum au sevrage, tandis que BEST (1981) parla de 16 mm (± 40 mg).

Notons que, chez le bar rayé, KERBY (1972, cité par DABROWSKI 1994) propose de commencer le sevrage 14 à 21 jours après l'éclosion et d'arrêter l'apport d'aliments vivants après 28 jours. Pour les autres percidés comme le sandre, le walleye et la perche fluviatile, ce moment est encore fort imprécis, car des problèmes existent encore à propos de l'acceptation d'un aliment artificiel.

Ainsi, nous constatons que les poids au sevrage de 7,13 et 18 mg se situent tous à des longueurs des larves de perche inférieures à 16 mm. Il est donc normal que ces essais avec la perche fluviatile mènent à de mauvais résultats, car elle est l'équivalent biologique de la perchaude en Europe.

Le résultat du sevrage réalisé à 56 mg est en accord avec ce que présentent HEIDINGER et KAYES (1986) mais semble opposé à ce que prédisaient MANSUETI (1964) et BEST (1982, cité par DABROWSKI, 1994). Quant au sevrage réalisé à 112 mg comme poids moyen, les performances qu'il permet d'atteindre sont en désaccord avec les deux auteurs cités précédemment mais pas avec HEIDINGER et KAYES (au niveau de la survie).

Alors, d'après ces observations, nous pouvons suggérer un poids moyen au sevrage adéquat des larves de perche en termes de survie et de croissance, supérieur à 112 mg et pouvant aller jusqu'à 320 mg. Selon l'évolution des activités enzymatiques, ce poids est même insuffisant et, pour être sûr que l'aliment artificiel soit efficacement digéré, il peut atteindre 350 mg.

5.2. Détermination de la meilleure duré pour la phase de transition vers un aliment artificiel

Nous constatons donc qu'un sevrage de plus en plus progressif mène à de moins bonnes performances globales. Ce phénomène pourrait avoir comme explication ceci: lorsqu'on allonge la période pendant laquelle la ration des larves ne comprend que 25 % d'aliment artificiel, les larves qui ont une meilleure croissance auront plus de temps pour devenir dominantes et cannibales, ce qui a pour effet de stresser les autres larves et de diminuer la croissance et la survie globale du lot.

Aussi, il a souvent été prouvé (KESTEMONT, Com. pres.) que, durant la période d'alimentation mixte, les larves montraient une bonne croissance et une survie satisfaisantes; nous avons d'ailleurs remarqué que ce n'était que lorsque l'aliment artificiel était distribué seul que les trois types de sevrages (cf. expérience 2) se différenciaient bien au niveau de la croissance des larves. De fait, à ce moment, les larves ne pouvant plus se nourrir que de cet aliment, leurs performances étaient vraiment liées au type d'aliment distribué.

Si nous comparons le cas de l'expérience 3 dans lesquel des larves de 10,7 mg ont été sevrées en 11 jours, au cas de l'expérience 1 dans lequel des larves ont été sevrées à 13 mg et en 4 jours, nous remarquons que le poids moyen atteint par les larves, à un âge de 30 jours, est 3 fois plus élevé dans l'expérience 1 que dans la 3. Nous devons cependant être très prudents dans l'interprétation de cette comparaison, car de nombreux facteurs étaient différents dans ces 2 expériences mais constituaient à la fois des avantages et des inconvénients pour les expériences, l'une par rapport à l'autre.

Ainsi, nous trouvons que la phase de transition vers un aliment artificiel doit être assez longue, pour permettre aux larves de s'adapter à cet aliment, mais pas de trop, car sinon, le cannibalisme a tendance à se prononcer et, la croissance, à

diminuer. De ce fait, une durée supérieure à 3 jours et inférieure à 11 jours semble raisonnable.

5.3. EFFET D'UN ALIMENT ARTIFICIEL SUR LES ENZYMES PROTEOLYTIQUES

Lors de l'expérience 3, bien que nous ayons observé des différences dans l'évolution de l'activité de nos trois enzymes, des ANOVA 2 réalisées sur les activités spécifiques trypsique et pepsique en fin d'expérience (Annexes III.3 et III. 10) ne permettent pas de montrer un effet du "régime" mais mettent en évidence l'existence d'une variabilité entre les bassins, au sein d'un même régime. Seulement dans le cas de l'activité shymotrypsique spécifique, l'effet "régime" est significatif (Annexe III.9) et celui des bassins, non significatif.

En ce qui concerne la trypsine, l'aliment artificiel a tendance à faire augmenter son activité spécifique si le sevrage est effectué tôt (cf. expérience 1) et donc si l'aliment est mal accepté, mais aussi si l'aliment artificiel est distribué tard et mène à une croissance raisonnable (cf. expérience 3). Ces résultats semblent contradictoires mais, si l'on regarde la réponse générale (= une augmentation) de cette activité lors de l'apport d'aliments artificiels en suffisance et si l'on se souvient que l'aliment Seabream contient 57,9 % de protéines (face aux 45,2 % des *Artemia* et aux 45,4 % du LANSY) et que cela pourrait engendrer une augmentation de cette activité (comme observé par KAWAÏ et IKEDA, 1973 avec la truite arc-en-ciel et le saumon qui sont des poissons carnivores comme la perche), il apparaît qu'ils ne sont pas aussi contradictoires que cela pourrait le laisser croire.De plus, une élévation de cette activité suite au sevrage fut aussi observée par DABROWSKI (1992) avec le saumon alpin et par HOER et KÖCK (1987) avec le gardon. Portant, ABI-AYAD et KESTEMONT (1994) ont remarqué que, chez le carassin doré, l'aliment artificiel faisait diminuer l'activité trypsique et que, lorsque l'alimentation était mixte, une meilleure croissance était liée à une activité plus élevée.

Grâce à l'expérience 2, nous avons remarqué en plus que cette élévation était plus faible et de plus courte durée lorsque la phase de transition vers l'aliment artificiel était longue.

Pour ce qui est de la chymotrypsine, son activité spécifique est influencée positivement dans tous les cas. Cette élévation s'estompe d'autant plus vite que la phase de transition a été courte. Elle est, comme la trypsine, plus élevée quand l'aliment contient plus de protéines.

Quant à la pepsine, son activité spécifique se voit aussi accrue généralement lorsque l'aliment artificiel prend une part importante dans la ration des larves de perche. Cependant, ici, l'effet est beaucoup moins visible et semble plus relié à la teneur protéique de l'aliment.

De plus, avec cet enzyme, la relation de l'activité spécifique avec la durée de la phase de transition n'existe pas, comme c'est apprarement le cas avec les enzymes pancréatiques.

Ainsi, globalement, selon nos observations, l'aliment artificiel entraîne, chez les larves de perche, une augmentation de ces activités lorsqu'il prend une part importante (60 à 100 %) dans leur ration. En fait, au début du sevrage, il est moins bien accepté et moins ingéré et lorsque la proportion d'*Artemia*, aliment bien ingéré par les larves, devient trop petite, le taux d'ingestion diminue et fait descendre la sécrétion d'enzymes (faute de substrats). Par la suite, il est mieux ingéré et, s'il contient beaucoup de protéines, ce qui est souvent le cas face à l'aliment vivant, provoque une augmentation de la sécrétion de ces enzymes. Sinon, il semble finalement mener à une réduction de ces activités.

Le fait que l'aliment artificiel engendre une augmentation des activités enzymatiques n'est pas une réponse anormale de la part des larves mais plutôt une adaptation. Cette augmentation serait une compensation des larves vis-à-vis de la moindre digestibilité des aliments artificiels. Ce phénomène est aussi observé chez le gardon (HOFER et KÖCK, 1989), chez le bar (mais pas pour la trypsine, selon ZAMBONINO INFANTE ET CAHU, 1993), chez le saumon alpin (mais aussi pour la chymotrypsine, selon DABROWSKI, 1991) et même chez le crustacés Penaeus japonicus (LE VAY et alii, 1993).

Selon KAMARUDIN *et la* (1994), l'augmentation de l'activité trypsique de larves de *Macrobrachium* élevées avec de l'aliment naturel peut être due à la vidange de vitellus et/ou à l'augmentation du rapport hépotopancréas poids sec des larves et/ou au passage du phytoplancton au zooplancton comme aliment.

L'observation qu'une assimilation et une digestion efficace d'un aliment menait à une élévation de l'activité trypsique fut aussi faite par HJELMELAND et alii (1984) et par BARAGI et LOVELL (1986).

En réalité, nous remarquons que le paradigme "assez mais pas trop" utilisé par DIAMOND (1991) pour décrire les capacités de digestion et d'absorption pourrait expliquer pourquoi les larves de poisson survivent et croissent mieux avec des aliments vivants et pas avec des aliments artificiels. Selon VERRETH (1994) étudiant les larves de *Clarias gariepinus*, l'apparition de l'estomac vers 10-20 mg est corrélée avec un changement dans le spectre alimentaire des larves et montre la fin de la période larvaire. Cependant, la présence de cet organe ne serait pas toujours synonyme d'une bonne acceptation d'un aliment artificiel, comme ce fu observé avec les larves de perche.

Le relais pris par la pepsine pour la digestion protéique, pour remplacer les enzymes pancréatiques lors de l'apparition de l'estomac montre qu'à ce moment, la capacité protéolytique totale de la larve qui grandit change qualitativement mais pas quantitativement (VERRETH et alii, 1993).

La mauvaise digestibilité d'un aliment peut avoir beaucoup de causes. Ainsi, selon DABROWSKI et POSZYCZYNSKI (1988), les protéases des larves seraient inhibées par inhibiteurs présents dans l'aliment. Pour PEDERSEN et HJELMENAD (1988) et pour PEDERSEN et ANDERSEN (1992), le problème avec les aliments artificiels serait plutôt lié à une question d'insuffisance dans la stimulation des enzymes endogènes des larves qu'à une faible capacité digestive des jeunes larves. Cette dernière affirmation est soutenue par MITCHELL et alii (1993), chez le walleye.

Nous n'avons suivis que les enzymes protéolytiques mais il faut savoir que l'aliment artificiel a aussi des effets sur d'autres enzymes. En effet, SEGNER et alii (1993) ont remarqué qu'ils faisaient diminuer les niveaux de citrate synthétase et d'enzyme catabolisant les acides aminés.

Si l'on voulait simplifier le problème de la larve à digérer des aliments artificiels. On pourrait dire que, lors du début de la nutrition exogène, la larve est prête morpho-fonctionnellement mais, en pratique, elle a du mal à "allumer" ces fonctions, tant en termes d'ingestion que de digestion (VERRETH, 1994).

Lors de nos expériences l'évolution des activités enzymatiques n'était pas toujours complétement explicable En effet, la croissance larvaire est influencée par l'activité protéolytique du tube digestif des larves et cette activité dépend à la fois de la nature de l'aliment ingéré, du stade de développement physiologique et pondéral, et de l'espèce considérée (ÜEBERSCHÄR, 1988). Ainsi, bien que nos prélèvements de larves aient été réalisés entre 15 et 60 minutes après un repas (cf. temps d'ingestion = 1 heure à 20°C), toutes les larves prélevées n'étaient probablement pas au même stade de digestion (stomacale ou intestinale) et n'avaient peut-être pas ingéré la même quantité ou qualité (dans le cas de régime mixte, bien que le rapport poids du tube digestif/poids corporel nous en donne une idée) de nourriture. Nous nous sommes donc attaché à analyser l'évolution assez générale des activités et pas leurs petites variations (due aux prélèvements effectués au hasard). De plus, il existe une certaine variabilité génétique entre les larves et elles peuvent commencer à sécréter certains enzymes à des moments plus ou moins différents. Enfin, notons que lorsqu'on compare les activités totales, plus le poisson sera gros, à partir d'un certain stade, plus sa sécrétion d'enzymes sera importante, bien que cette sécrétion se stabilise par la suite.

Le fait que, chez les larves de perche, l'activité enzymatique soit augmentée par l'ingestion d'aliments artificiels peut être dû à un autre phénomène que la compensation à la moins bonne assimilation de cet aliment. De fait, les *Artemia* contenant des enzymes protéolytiques (surtout de la pepsine) pouvant contribuer à 80 % de leur propre digestion (LAUFF et HOFER, 1984), contrairement aux aliments artificiels, pourraient provoquer une diminution de la production des enzymes endogènes. Sachant que les larves possèdent un mécanisme de réabsorption d'enzymes moins efficace (car réalisé dans un segment plus court de l'intestin postérieur chez la perche) que les adultes, les pertes de protéines corporelles via les fèces sont plus importantes chez elles et la diminution de la production d'enzymes est accentuée, ce qui explique que, plus elles sont jeunes, moins elles pourront facilement s'adapter à un nouvel aliment. D'ailleurs, chez les larves, face aux adultes, l'efficacité d'assimilation est égale ou un peu inférieure mais leur cœfficient d'utilisation est beaucoup ou un peu inférieur.

Notons enfin que les activités enzymatiques que nous avons mesurées, au niveau quantitatif ne proviennent pas toutes de la dégradation d'aliments. Ainsi, n'oublions pas les rôles de certains enzymes dans l'éclosion et le fait que, plus tard, la desquamation cellulaire et les synthèses bactériennes peuvent être des substrats supplémentaires pour les enzymes. A ce sujet, les comparaisons avec d'autres auteurs doivent être faites avec précaution, car les méthodes d'analyse ainsi que ce qui est vraiment dosé sont souvent différents.

VI. RESUME ET CONCLUSIONS

VI. RESUME ET CONCLUSIONS

Chez les percidés, malgré certains éclaircissements réalisés dans la maîtrise de la reproduction, à propos du grossissement et concernant les besoins métaboliques de ces poissons, l'élevage intensif est complètement intégré et est encore loin d'être parfaitement au point. En effet, chez eux et plus particulièrement chez la perche (*Perca fluviatilis*), le sevrage des larves sur des aliments artificiels est encore mal maîtrisé, surtout lorsqu'on sait que, ni le moment adéquat pour amener les larves à accepter ces aliments, ni la durée de la phase de transition ne sont connus.

De plus, afin de déterminer les capacités digestives des perches durant leur ontogenèse, nous avons suivi l'évolution de l'activité des trois enzymes protéolytiques chez leurs larves.

La perche est un poisson relativement recherché car il possède une chair très appréciée et car il a un comportement combatif lorsqu'on le pêche. De ce fait, il commence à manquer dans le milieu naturel, suite à une exploitation halieutique intense à la fois pour la consommation et pour le sport. Il est donc vite devenu nécessaire de développer une pisciculture de ce poisson pour pouvoir faire du repeuplement et pour développer le marché de ce poisson pour la consommation. Une pisciculture rentable à long terme n'est concevable que si elle est intensive et que si elle a été conçue en connaissant tous les besoins et préférences des poissons dont elle fait l'objet. En conditions intensives, il est indispensable d'amener les larves à accepter rapidement un aliment artificiel et, cela, sans voir apparaître d'inconvénients majeurs, face à des aliments vivants.

Chez les larves de perche, le tube digestif est simplifié et incomplet (sans estomac) lors de la première alimentation exogène, après que le vitellus ait vite été consommé. De plus, l'ouverture de la bouche est très petite et la vision n'est pas encore bien développée.

Ainsi, les larves ont besoin très tôt d'un aliment énergétique facilement digestible et d'une taille adéquate.

En ce qui concerne les activités spécifiques des enzymes protéolytiques, si ceux-ci sont pancréatiques et actifs à un pH élevé (cf. trypsine et chymotrypsine), elles sont présentes et élevées très tôt puis diminuent, et si ceux-ci sont

gastriques et actifs à pH bas (cf. pepsine), elles s'élèvent à partir d'un certain moment (quand l'estomac est formé et fonctionnel).

Tout cela concorde à rendre l'acceptation d'un aliment artificiel assez délicate chez les jeunes larves, surtout si l'on ne connaît pas tout ce dont la larve a besoin, et quand elle manifeste ces besoins. C'est justement à propos de ce dernier point qu'ont été menées nos expériences.

Pratiquement, dans une première expérience, des larves de perche distribuées dans 12 bassins d'élevage de 25 litres, à une température (20,5°C) et à une photopériode (L : D 16 /8) constantes, sont sevrées en 4 jours, à des poids moyens différents (7,13,18,56 et 112 mg). Dans 2 bassins, des larves sont nourries exclusivement d'*Artemia* et constituent un lot témoin. Cette expérience est accompagnée d'un élevage extensif en étang de 110 m^2 considéré comme standard, ainsi que d'un élevage semi-intensif en bassins-bâches de 10 m^2 en vue de situer les résultats de notre expérience par rapport à des élevages en conditions plus ou moins naturelles. Dans une deuxième expérience, des enzymes protéolytiques sont suivis particulièrement lors de l'ontogenèse de larves nourries, soit d'*Artemia* (= témoin), soit d'un aliment artificiel (LANSY ou Seabream). Lors d'une troisième expérience, des larves sont sevrées sur du Seabream en 11, 21 ou 24 jours et, comme dans les expériences précédentes, les critères zootechniques et biochimiques des larves sont suivis.

Dans l'expérience 1, les larves nourries d'*Artemia* ont enregistré, après 27 jours, un poids moyen de 397 mg et une survie de 35,6 % tandis que celles qui furent sevrées à 112 mg ont seulement atteint 230 mg, avec une survie de 35,2 %.

Cela a montré que le poids adéquat pour le sevrage devrait être supérieur à 112 mg. Les larves de l'étang et celles des bassins-bâches avaient une croissance et une survie assez satisfaisantes et ce sont celles qui furent élevées en conditions semi-intensives qui ont obtenu les meilleurs résultats globaux. En examinant l'évolution de l'activité des enzymes, nous avons observé que ce n'était que vers 300 mg que les larves étaient capable de digérer assez efficacement un aliment.

Grâce à la deuxième expérience, nous avons trouvé qu'une phase de transition trop courte (inférieure à 4 jours) ou trop longue (11 jours et plus) était néfaste pour les larves.

Enfin, la troisième expérience a montré qu'un aliment artificiel induisait une augmentation des activités enzymatiques sauf s'il était efficace et riche en protéines, et cela, après un temps d'adaptation. Nous avons interprété cette élévation soit par un phénomène compensatoire de la part des larves, face à la moins bonne digestibilité de l'aliment aritificiel, soit par le fait que la larve essaie de digérer le plus efficacement un aliment et produit d'autant plus d'enzymes qu'il contient des protéines. Ces interprétations ne sont que des hypothèses et elles sont à la fois soutenues et dépréciées par différents auteurs ayant travaillé des travaux sur les enzymes de larves de divers poissons

C'est pourquoi nous constatons qu'il reste encore des points à éclaircir dans cet élevage larvaire; surtout dans la détermination d'un poids moyen et d'une durée précise pour le sevrage des larves . Afin de déterminer ce poids et de mieux cerner les problèmes rencontrés dans cet élevage, il serait intéressant d'entreprendre d'autres études multidisciplinaires comme des études des comportements en aquarium, une étude histocytologique du foie et des rapports DNA/RNA, et cela, en parallèle avec l'étude des performances zootechniques (survies, croissance, T.C.A., C.E.P., .). Il serait ainsi possible d'expliquer si la mauvaise acceptation de certains aliments est plutôt due à une déficience dans l'ingestion et/ou la digestion et/ou l'intégration et/ou le stockage de ces aliments.

En ce qui concerne le problème du cannibalisme, une étude pour déterminer la fréquence de nourrissage optimale et une autre pour connaître les préférences en intensité lumineuse des larves de perche en conditions intensives contrôlées, seraient d'une aide précieuse.

Lorsque ces points ainsi que d'autres concernant la reproduction contrôlée et le grossissement des juvéniles seront éclaircis, on pourra développer progressivement une pisciciculture intensive de la perche et, finalement, il sera plus facile de répondre à une demande des consommateurs et à une diminution des stocks naturels, croissantes pour cette espèce.

VII. BIBLIOGRAPHIE

ABI-AYAD A., KESTEMONT P., 1994 - Comparison of the nutritional status of goldfish (*Carassius auratus*) larvae fed with live, mixed or dry diet; *Aquaculture* (in print), 14 p.

ABI-AYAD A., 1991 - Influence du régime alimentaire sur l'état nutritionnel des larves de carrassin doré (*Carassius auratus*) ; Mémoire U.N.EC.E.D., 47 p.

ALLIOT E., FEBVRE A. ET METAILLER R., 1974 - Les protéases digestives chez un téléostéen carnivore *Dicentrarchus labrax* ; *Ann. Biol. Biochim. Biophys.* 14, 229-237.

ALLIOT E., 1979 - Evolution de quelques activités digestives au cours de développements larvaires de téléostéens. In : *Nutrition des poissons.* Acte du colloque. C.N.E.R.N.A., Paris, Mai 1979, CNRS., 1979-1988.

ALLIOT E., 1980 - Evolution des activités enzymatiques dans le tube digestif au cours de la vie larvaire du bar *Dicentrarchus labrax.* Variation des protéinogrammes et des zymogrammes. *Biochimie* (Paris). 3, 441-445.

ALLIOT E., PASTOUREAUD A. ET THEBAULT H., 1983 - Influence de la température et de la salinité sur la croissance et la compostion corporelle d'alevins de *Dicentrarchus labrax. Aquaculture*, 31, 181-194.

ANANICHEV A. V., 1959 - Digestive enzymes of fish and seasonal changes in their activity. *Biokhimiya*, 24, 1033-1040. (English transla. : *biochemistry*, 24, 952-958).

ANSON M. L., 1938 - The estimation of pepsin, trypsin, papain and cathepsin with hemoglobin ; *J. of General Physiol.* 22, 79-89.

BALON E. K., 1975 - Terminology of intervals of fish development; *J. Fish. res. Bd. Canada* 32 (9), 1663-1870.

BARAGI V. et LOVELL R. T. , 1979 - Structure et fonction des cæca pyloriques. In : *Nutrition des poissons.* Acte du colloque CNERNA, Paris, Mai 1979 CNRS, 45-53.

BARAGI V. et LOVELL R.T., 1986 - Digestive enzyme activities in striped bass from first feeding through larva development. *Trans. Am. Fish. Soc.* 115, 478-484.

BARROWS F.T., SELL J.L., NICKUM J.G., 1988 - Effects of dietary protein and energy levels on weight gains, body composition, and DNA : RNA ratios of fingerling walleyes. *Prog. Fish. Cult.*, 50, 211-218.

BEIN R., RIBI G., 1994 - Effect of larval density and salinity on the development of perch larvae (*Perca fluviatilis L.*). *Aquatic Sciences* 56/2, 97-105.

BENGTSON D.A., 1991 - A comprehensive program for the evaluation of artificial diets. In : *P. LAVENS, P. SORGELOOS, E. JASPERS, F. OLLEVIER* (Eds.) : Larvi '91- Fish and Crustacean Larviculture symposium. EAS Special Publication n° 15. Gent Belgium ,142-143.

BERGOT G., 1979 - Structure et fonction des caeca pyloriques. In : *Nutrition des poissons*, 1ère partie : La digestion. Actes du colloque CNERNA, mai 1979, publié par FONTAINE M.,55-68.

BONDI A., SPANDORF A., 1957 - The nutritive value of various feeds for carp. *Bamidgh* 9 (1), 13-18.

BRETT J.R., SHELBOURN J.E., SHOOP C.T., 1969 - Growth, rate and body composition of fingerling sockeye salmon, *Oncorhyncus nerka*, in relation to temperature and ration size. *J.Fish. Res. Bd. Can.* 26, 2363-2394.

BRUYLANTS B., VANDELANNOTE A., VEHEYEN R., 1986 - The movement pattern and density distribution of perch (*Perca fluviatilis*) in a channelized lowband river. *Aquacult. Fish. Manage*, vol, 17, n°2, 49-57.

BUDDINGTON R.K., 1985 - Digestive secretion of lake sturgeon, Acipenser fulvescens, during early development. *J. Fish. Biol.* : 26, 715-723.

CAKE M. H., POTTER I.C., POWER G.W., 1991 - Digestive enzyme activities and their distribution in the alimentary canal of larvae of three extant lamprey families. *School of Biological and Environmental Sciences*, 1-10.

CARUSO G., GENOVESE L., GRECO S., 1993 - Effect of two diets on the enzymatic activity of *Pagellus acarne* (Brunnich, 1768) in intensive rearing. *Eur. Aquacult. Soc.*, Oostende (Belgium), Apr. 1993, *Spec. publ. Eur. Aquacult. Soc.* n° 19, p.261.

CHAPPAZ R., BRUN G., OLIVARI G., 1989 - Contribution à l'étude du régime alimentaire, de la croissance et de la fécondité de la perche (*Perca fluviatilis L.*) dans un lac oligotrophe de région tempérée. *Revue des Sciences de l'eau*, 2, 95-107.

CHARLON N., BERGOT P., 1984 - Rearing system for feeding fish larvae on dry diets. Trial with carp (*Cyprinus carpio L.*) Larvae. *Aquaculture* 41, 1-9.

CHESHIRE W. F., STEELE K. L., 1972 - Hatchery rearing of walleyes using arificial food. *Prog. Fish Cult.* 34, 96-99.

CHO C.Y, SLINGER S. J., 1979 - Significance of digestibility measurements in formulation of needs for rainbow trout. In : *Finfish nutrition and fishfeed technology*. J.E. HALVER, K. TIENS (Eds.). Berlin : Heeneman Verlagsgesel. Vol.2, 239-247.

COHEN T., GERTLER A. BIRK Y., 1981 - Pancreatic proteolytic enzymes from carp (*Cyprinus carpio*)-1.Purification and physical properties of trypsin, chymotrypsin, elastase and carbohydratase. *Comp. Biochem. Physiol.* 69 A, 639-646.

COLESANTE R. T., 1986 - Intensive culture of walleye fry with live food and formulated diets. *Prog. Fish. Cult.* 50, 160-166.

COLETTE B. B., ALI M. M., MUMUKANSON E. F. NAGIEC M., SMIRNOV S. A., THURPE J. E., WEATHERLEY A. H. & WILLEMSEN J., 1977 - Biology the percids. *J. Fish. Res. Board Can.*, 34, 10, 1890-1899.

COLETTE B. B., BANARESCU P., 1977 - Systematic and zoogeography of the fishes of the family percidae. *J. Fish Res. Board. Can.*, 34, 1450-1463.

CRAIG J. F., 1987 - The biology of the perch and related Fish. Ed. Timber Press, 33 p.

DABROWSKI K., 1979 - The role of proteolytic enzymes in fish digestion. In *Cultivation of fish fry and its live food.* Special publication, vol. 4, *European Mariculture Society*, Belgium, 107-126.

DABROWSKI K., 1982 - Proteolytic enzyme activity decline in starving fish alevins and larvae. *Environ. biol. fish.* 7, 73-76.

DABROWSKI K., 1984 - The feeding of fish larvae: state of the art and perspectives. *Reprod. Nutr. Develp.*, 24, 807-833.

DABROWSKI K., 1986 - Ontogenetical aspects of nutritional requirements in fish. *Comp. Biochem. Physiol.* Vol. 85 A, n°4, 639-665.

DABROWSKI K., 1991 - Yellow perch report, 12 p.

DABROWSKI K., 1992 - Ecophysiological adaptations exist in nutrient requirements of fish : true or false? *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 104 A, n°3, 579-584.

DABROWSKI K., 1994 - Yellow perch report : plan of work for grant #93-38500-8392, 9p.

DABROWSKI K., CULVER D. A., 1991 - The physiology of larval fish. Digestive tract and formulation of starter diets. *Aquaculture,* march/april 1991, 49-61.

DABROWSKI K., GLOGOWSKI J., 1977 (a) - Studies on the role of exogenous proteolytic enzymes in digestion process in fish. *Hydrobiologia*, 54, 129-134.

DABROWSKI K., GLOGOWSKI J., 1977 (b) - A study of the application of proteolytic enzymes to fish food. *Aquaculture* 12, 171-174.

DABROWSKI K., KRUMSCHNABEL G., PAUKKU M., LABANOWSKI J., 1992 - Cyclic growth and activity of pancreatic enzymes of artic charr (*Salvelinus alpinus*) alevins. *J. Fish. Biol.* 40, 511-521.

DABROWSKI K et POCZYCZYNSKI P., 1988 - Comparative experiments on starter diets for grass carp and common carp. *Aquaculture* 69, 317-332.

DAJOZ L., 1985 - Précis d'écologie. Dunod Université, Bordas, Paris, 505 p.

DALIMIER N., PHILIPPART J. C., VOSS J., 1982 - Etude éco-éthologique de la reproduction de la perche (*Perca fluviatilis*). Observations en plongée dans une carrière inondée. *C. Ethol. Appl.*, 2 (1), 37-52.

DIAMOND J., 1991 - Evolutionary design of intestinal nutrient absorption : enough but not too much. *News in Physiological Sci.* 6, 92-96.

ELDRIDGE, M. B., WHIPPLE J. A., DOWERS M. J., 1982 - Bioenergetics and growth of striped bass (*Morone saxatilis*) embryos and larvae. *Fish. Bull.*, 80, 461-474.

ESHEL A., LINDNER P., SMIRNOFF P., NEWTON S. et HARPAZ S., 1993 - Comparative study of proteolytic enzymes in the digestive tracts of the european sea bass and hybrid srtiped bass in freshwater. *Comp. Biochem. Physiol.,* vol 106A, n°4, 627-634.

FÄNGE R., GROVE D., 1979 - Digestion. In : W. S. Haar, D. J. Randall and J. R. Brett (Eds.). *Fish physiology.* vol. 8, New-York, Academic Press, 161-260.

FISH G. R., 1960 - The comparative activity of some digestive enzymes in the alimentary canal of tilapia and perch. *Hydrobiologia*, 15, 161-179.

FLÜCHTER J., REMBOLD H., 1988 - Nutritional factor enabling metamorphosis of coregonid larvae. *Finnish fisheries Res.* 9, 339-344.

FONTAINE P.,TAMAZOUZT L., TERVER D., GEORGES A., 1993 - Actual state of production of perch : problems and prospects 1. Mass rearing potentialities of the common perch under controlled contitions. *Eur. Aqu.acult Soc*, Special publication n°20, April 1993, 46-48.

FURNASS T. I., 1979 - Laboratory experiments on prey selection by perch fry (*Perca fluviatilis*). *Freshwater Biology,* 9, 33-43.

GEIGER J.G., 1983 - Zooplancton production and manipulation in striped bass rearing ponds. *Aquaculture* 35, 331-351.

GEIGER R., 1985 - Chymotrypsin. In: H. U. Bergmeyer (Ed.), Methods of enzymatic Analysis, 3rd edition, vol. II. *Verlag Chemie*, Weinheim, 99-116.

GOUBIER J., MARCHANDISE B., 1989 - Etude de faisabilité d'une pisciculture de perche. Rapport final de convention entre la région Rhones-Alpes et l'Institut Régional de Recherches Appliquées en Aquaculture, 18-58.

GOUBIER V., 1990 - Reproduction et élevage larvaire de la perche (*Perca fluviatilis*). *Aquarevue*, 31, 14-18.

GOVONI J.J., BOEHLERT G.W. et WATANABE Y., 1986 - The physiology of digestion in fish larvae. *Env. Biol. Fish.* 16, 59-77.

GRABNER M., WIESER W., LACKNER R., 1982 - The suitability of frozen and freezedried zooplanction as food for fish larvae : a biochemical test program. *Aquacutlture* 26, 85-94.

GRAHAM D. M., 1992 - Size and species selection of zooplankton by larval and juvenile Walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*) in Oneida Lake, New-York. *Can. J. Zool.* vol. 70, n°10, 2059-2067.

GREGOIRE I.,1992 - Etude des besoins nutritionnels des larves et des juvéniles de perche (*Perca fluviatilis*) en vue d'une production intensive de ce poisson. Mémoire UN.EC.ED., 77 p.

GUMA'A S. A., 1978 - The food and feeding habits of young perch (*Perca fluviatilis*) in Wintdermere. *Freshwater Biol.* 8, 177-187.

GUTTI G., 1993 - Mortality, growth and diet of perch *Perca fluviatilis L.* in the Cikola branch system of the Szigetközarea, River Danube, *Arch. Hydrobiol.* 128 (3), 317-327.

HECHT T. et PIENAAR A. G., 1993 - A review of cannibalism and its implication in fish larviculture. *J. World Aquac. Soc.* vol. 24, n°4,246-261.

HEIDINGER R.C., KAYES T. B., 1986 - Culture of non salmonid freshwater fishes; yellow perch. Boca raton, FL : CRC Press, 7, 103-114.

HENKEN A.M., KLEINGELD D.W., TIJSSEN P.A.T., 1985 - The effect of feeding level on apparent digestibility of dietary dry matters, crude protein and gross energy in the african catfish (*Clarias gariepinus*, Burchell 1822). *Aquaculture* 51, 1-11.

HEPHER B., 1988 - Nutrition of pond fishes. Cambridge university press. New York, New Rochelle, Melbourne, Sydney, 17-216.

HJELMENLAND K., HUSE I., 1984 - Trypsin and trypsinogen as indices of growth and survival potential of cod (*Gadus morhua L.*) larvae. In Dahl E., Danielsen D. S., Morkness E., Solendal P. (Eds). *The propagation of cod (G. morhua)* part 1. Institute of marine research, Flodevigen biological station, 183-211.

HJELMELAND K. ,PEDERSEN B.H. et NILSSEN M., 1988 - Trypsin content inintestines of hering larvae, *Clupea harengus*, ingesting inert polystyrene spheres or live crustacean prey. *Mar. Biol.*.93, 331-335.

HOFER R., 1982 - Protein digestion and proteolytic activity in the digestive tract of an omnivore cyprinid. *Comp. biochem. physid. vol.*, 72a, n°1, 55-63.

HOFER R., KÖCK G., 1987 - Tryptic activity in the digestive tract of roach larvae (*Rutilus rutilus*) feed natural and artificial diets. *Aquaculture Europe*, Amsterdam, June, 2-5.

HOFER R., SCHIEMER F., 1981 - Proteolytic activity in the digestive tract of several species of fish with different feeding habits. *Oecologia* (Berl.) 48, 342-345.

HOFER R., UDDIN A.N., 1985 - Digestive processes during the development of the roach *Rutilus rutilus* L.. *J. Fish. Biol.* 26, 683-689.

HOKANSON K. E. F., KLEINER Ch. F., 1974 - Effects of constant and rising temperature on survival and development rates of embryonic and larval yellow perch (*Perca flavescens* Mitchill). In : The early life history of fishes. Ed. Blaxter J. H. S.; 437-448.

HORN M.H., 1989 - Biology of marine herbivorous fishes. *Oceanogr. Mar. Biol. A. Rev.* 27, 167-272.

HOULINHAN D.E., 1991 - Protein turnover in fish larvae. Larvi 91' - Fish and crustacean larviculture symposium, 16 p.

HUDSON B., DE LA NOUE J., 1984 - Influence of meal frequency on apparent nutrient digestibility in rainbow trout, *Salmo gairdneri. Bull. fr. Piscic.* 294 , 49-51.

HUNG S. S. O., CONTE F. S., HALLEN E. F., 1992 - Effects of feeding rates on growth, body composition and nutrient metabolism in striped bass (*Morone saxatilis*) fingerlings. *Aquaculture* 112, 349-361.

HUNTER J.R., 1984 - Interferences regarding predation on the early life stages of cod and other fishes. In : DAHL E., DANIELSEN D.S., MOKSNESS E., SOLEMDAL P. (Eds.) : The propagation of cod, *Gadus morhua*, part 1. Institute of Marine Research, Flodevigen Biological Station, 533-562.

HYKES R., 1993 - Influence du régime alimentaire sur la longueur du tube digestif des poissons. *C. R. Soc. Biol.* (Paris) 113, 1239-1241.

JÅNCÅRIK A., 1964 - Die verdauung der Hauptnaehrstoffe bein Karpfen. *Z. Fisch.* 12, 602-684.

JEZIERSKA B., 1974 - The effect of various type of food on the growth and chemical composition of the body of perch (*Perca fluviatilis L.)* in laboratory conditions. *Pol. Arch. Hydrobiol.*, 22, 3/4, 467-479.

KAMLER K., 1992 - Early life history of fish, an energetic approach. Chapman et Hall (Eds.), 106 p.

KAWAI S. I., IDEKA S., 1973 - Studies on digestive enzymes of fishes I. Development of the digestive enzymes of carp and black sea bream after hatching. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish*, 3 p (8), 877-882.

KITAMIKADO M., TACHINO S., 1960 - Studies on the digestive enzymes of rainbow trout II. Proteases. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 26, 685-690.

KLAR, PARKER, 1989 -

KOLKOVSKI S., TANDLER A., KISSIL G.W., GERTLER A., 1993 - The effect of dietary exogenous enzymes on ingestionassimilation growth and survival of gilthead seabream (*Sparus aurata*, sparidae, Linneaus) larvae. *Fish. Physiol. and Biochem.*, vol. 12, n°3, 203-209.

KRISTJHANSSON M. M., 1982 - Purification and characterization of trypsin from the pyloric cæca of rainbow trout (*Oncorhyncus mykiss*). Marine biotechnology center, Technological laboratory, Ministry of fischeries. Technical university of Denmark, Lyngby, 208 p.

LAUFF M., HOFER R., 1984 - Proteolytic enzymes in fish development and importance of dietary enzyme. *Aquaculture*, 37, 335-346.

LEACH J. H., JOHNSON M. G., KELSO J. R. M., HARMANN J., NUMANN W., ENTZ B., 1977 - Reponses of percid fishes and their habitats to eutrophication. *J. Fish. Bd. Can.* 34, 1964-1971.

LESSMARK O., 1983 - Competition between perch, *Perca fluviatilis*, and roach, *Rutilus rutilus* in south Swedish lakes. Doctoral dissertation, 172 p., Université LUND.

LOADMAN N. L., MATHIAS J. A., MOODIE G. E. E., 1989 - Method for the intensive culture of walleye. *The Prog. Fish. Cult.*, 51, 1-9.

LOVELL R.T., 1984 - Use of soybean products in diets for aquaculture species. *Soybeans*, Feb. 1984, 1-6.

LUBERDA Z., STRZEZEK J., LUCZYNSKI M., 1993 - Some proteolytic properties of hatching liquid in the sea trout, *Salmo trutta* m. *trutta* L.. *Fish Physiol. and Biochem.*, 12, 75-80.

Luzt P. L., 1972 - Ionic and body compartment responses to increasing salinity in the perch, *Perca fluviatilis. Comp. Biochem. Physiol.* 42 A, 711-717.

MAC CRAREN, 1984 -Introduction. In J.P. Mc Craren (Ed.), The aquaculture of striped bass, a proceedings. A Maryland Sea Grant Publication. University of Maryland, MD, 262 p.

MACLEOD M. G., 1977 - Effects of salinity on food intake, absorption and conversion in the rainbow trout, *Salmo gairdneri. Mar. Bio.* 43, 93-102.

MÄHR K., GRABNER R., HOFER R, MOSER H., 1983 - Histological and physiological development of the stomach in *Coregonus sp.. Archiv. für hydrobiologie* 98, 344-353.

MANSUETI A. J., 1964 - Early development of the yellow perch (*Perca flavescens*). *Chesepeake Science*, vol. 5, n°1-2, 46-66.

MARCHANDISE B., 1989 - Essais de reproduction et d'élevage de la perche (*Perca fluviatilis*) en conditions semi-naturelles et artificielles. DEA IRRA. Université de Lyon I, rapport technique, 37 p.

MARCO R., VALLEJO C. G., GARRESSE R. , PERONA R., 1980 - An hypothesis on the activation process of the proteolytic activities during *Artemia* early development. In G. Persoone (Ed.), *Artemia,* vol. 2, Univers Press. Wetteren, 315-323.

MARY L., 1994 - Etude expérimentale de l'effet de la densité de peuplement sur la croissance, la survie et le cannibalisme chez les alevins de perche (*Perca fluviatilis* L.). Mémoire ULg, 42 p.

MELARD C. et KESTEMONT P.,1993 - Diversification de la pisciculture en région wallone. Mise au point de l'élevage intensif d'espèces nouvelles pour la consommation et le repeuplement : cyprinidés et percidés. Convention de recherche, rapport annuel (mars 1992-mars 1993), 64 p.

MELARD C. et KESTEMONT P.,1994 - Diversification de la pisciculture en région wallone. Mise au point de l'élevage intensif d'espèces nouvelles pour la consommation et le repeuplement : cyprinidés et percidés. Convention de recherche, rapport annuel (mars 1993-mars 1994), 68 p.

MILLS E. L. , 1979 - Energetics, food consumption and growth of young yellow perch in Oneida Lake. *Trans. Amer. F. Soc.*, 110, 479-488.

MILLS E. L., CONFER J. S., 1986 - Computer processing of zooplankton - Application in fisheries studies. *Fisheries* 11, 24-27.

MILLS E. L., FORNEY J.L., 1981 - Energetics, food consumption and growth of young yellow perch in Oneida lake, New-York. *Trans. Am. Fish. Soc.* 110, 478-488.

MILLS E. L., FORNEY J. L., WAGNER K.J., 1987 - Fish predation and its cascading effects on the Oneida lake food chain. In Predation, direct and indirect impacts on aquatic communities. University Press of New England, Hanver, NH, 118-131.

MOOKERJI N., RAO T.R., 1991 - Survival and growth of rohu (*Labeo rohita*) and singhi (*Heteropneustes fossilis*) larvae fed on live foods. In : P. LAVENS, P. SORGELOOS, E. JASPERS, F. OLLEVIER (Eds.), *Larvi ' 91- Fish and crustacean symposium*, 307 p.

MOREAU Y., 1988 - Physiologie de la nutrition, 137-150.

MUNILLA-MORAN R., 1990 - Metabolism in marine flatfish VI. Effects of nutritional state on digestion in turbot, *Scholphthalmus maximus* (L.). *Comp. Biochem. Physiol.* 95B, 625-634.

MUNILLA-MORAN R., STARK J. R., 1989 - Protein digestion in early turbot larvae (*Scophthalmus maximus L.*) *Comp. Biochem. Physiol.* 95 B, 625-634.

NCRAC announcement, 1992 - Hybrid striped bass aquaculture. Workshop, 10 p.

ONISHI T.,MURAYAMA S., SHIBATA N., 1974 - Studies on enzymes of cultivated salmonid fishes. III. The change of the activities of several hepatic enzymes during their maturation process

OVERNELL J. , 1973 - Digestive enzymes of the pyloric caeca and their associated mesentery in the cod (*Gadus morhua*). *Comp. Biochem. Physiol.* 46 B, 519-531.

PEDERSEN B. H., 1990 - Effects of a transitory, low food supply in the early life of larval herring (*Clupea harengus*) on mortality, growth and digestive capacity. *Marine Biology* 107, 61-66.

PEDERSEN B. H., 1993 - Protein digestion in herring (*Clupea harengus*) larvae : trypsinogen secretion, and effects of a transitory food restriction on mortality, growth and digestive enzyme content. *Marine Biological Lab.*, Univ. of Copenhagen, 220-225.

PEDERSEN B. H. et HJELMELAND K., 1988 - Fate of trypsin and assimilation effiency in larval herring (*Clupea harengus*) following digestion of copepods. *Mar. Biol.* 97, 467- 476

PEDERSEN B. H., ANDERSEN K.P., 1992. - Induction of trypsinogen secretion in herring larvae (*Clupea harengus*). *Mar. Biol.* 112, 559-565.

PEDERSEN B.H., NILSSEN E.M. et HJELMELAND K., 1987 - Variations in the content of trypsin and trypsinogen in larval herring (*Clupea harengus*) digesting copepod nauplii. *Mar. Biol.* 94 000 : 171-181.

PERES G., 1979 - Les protéases, l'amylase, les enzymes chitinolytiques, les larminarinases. In : Nutrition des poissons. Acte du colloque CNERNA, Paris, CNRS, 55-67.

PERSON-LE-RUYET J., SAMAIN J. F., DANIEL J. Y., 1989 - Evolution de l'activité de la trypsine et de l'amylase au cours du développement chez la larve de bar (*Dicentrarchus labrax*). Effet de l'âge au sevrage. *Océanis*, vol., 15, fasc. 4, 465-480.

POST J. R., MAC QUEEN D. J., 1988 - Ontogenic changes in the distribution of larval and juvenile yellow perch (*Perca flavescens*) : a reponse to prey or predator? *Can. J. Fish. Aquat .Sci.*, 45, 1820-1826.

RASK M., 1983 - The effect of low pH on perch (*Perca fluviatilis*). I. Effects of low ph on the development of eggs of perch. *Ann. Zool. Fenn.* 20, 73-76.

RODRIGUEZ A., LE VAY L., MOURENTE G., JONES D.A., 1993 - Biochemical composition and digestive enzyme activity in larvae and postlarvae of *Penaeus japonicus* during herbivorous and carnivorous feeding. *Mar. Biol.* 118, 45-51.

RÖSCH R., SEGNER H., SCHMIDT H., VON POEPPINGHAUSSEN K. J., 1990 - Digestive enzymes in larval *Coregonus lavaretus. L. J. Fish. Biol.* 35, 249-263.

RUST M.B., HARDY R.W., STICKNEY R.R., 1993 - Assimilation of three biochemicall forms of radio-labelled methionine in four species of fish larvae. *Eur. Aquacult. Soc.* Oostende (Belgium), Apr. 1993, *Spec. Publ. Eur. Aquacult. Soc.* n° 19, p. 262.

RUUHIJÄRVI J., 1992 - The growth and survival of Pike-perch, *Stizostedion lucioperca L.*, larvae fed on formulated feeds. *Eur. Aqu. Soc.*, Special publication n°15, Gent, Belgium.

RYLE A. P., 1985 - Pepsins, gastricsins and their zymogens.

SABAPATHY U., TEO L. H., 1992 - A quantitative study of some digestive enzymes in the rabbitfish, *Siganus canaliculatus* and the sea bass, *Lates calcarifer. J. Fish. Biol.* 42, 595-602.

SAMAIN J. F., MOAL J., DANIEL J Y., JEZEQUEL M., 1980 - The digestive enzymes amylase and trypsin during the development of *Artemia* : effect of food conditons. In G. PERSOONE (Ed.), *Artemia* vol 2, Universal Press, Wetteren, 239-255.

SAMUEL E. et JAMES C.U., 1979 - How to know the freshwater fishes. In S. BAMRICKS, E.T. CAWLEY (Eds.), Wm C. Brown Company Publishers, Dubuque, Iowa, 215 p.

SCHLUMBERGER O., PROTEAU J. P., 1991 - Production de juvéniles de sandre (*Stizostedion lucioperca*). *Aquarevue* n° 36, 25-28.

SEGNER H., RÖSCH R., 1989 - Digestive enzymes in larval *Coregonus lavaretus.* L.. *J. Fish Biol.* 35, 249-263.

SEGNER H., RÖSCH R., VERRETH J. et WITT U., 1993 - Larval nutritional physiology: studies with *Clarias gariepinus, Coregonus lavaretus* and *Scophthalmus maximus. J. World Aquac. Soc.* 24, 121-134.

SMITH L. S., 1980 - Digestion in teleost fishes. In : Lectures presented at the FAO/UNDP. Training course in fish feed technology, ADCP/REP/80/11, 3-17.

SPANGLER G. R., PAYNE N. R., THORPE J. E., BRYNE J. R., REGIER H. A., CHRISTIEW J., 1977 - Reponses of percids to exploitation. *J. Fish. Res. Board Can.*, 34, 1983-1988.

SPILLMANN Ch., 1961 - Faune de France n°65. Poissons d'eau douce. Ed. Paul Lachevalier, Paris, 303 p.

STICKNEY R.R., 1986 - Culture of nonsalmonid freshwater fishes, C.R.C. Press, Inc., 201 p.

STROBAND H.W.J. et DABROWSKI K., 1981 - Morphological and physiological aspects of the digestive system and feeding in freshwater fish larvae. In : Nutrition des poissons. M. Fontaine, editor. Actes du Colloque. C.N.E.R.N.A. Paris , France, 355-374.

SUMMERFELT R. C., 1991 - Non-inflation of the gas bladder of larval walleye (*Stizostedion vitreum*) : experimental evidence for alternative hypotheses of its ethiolgy. *Eur. Aqu. Soc.*, Special publication, n°15, Gent, Begium, 208 p.

TANAKA, 1972 - Studies on the structure and function of the digestive system in teleost larvae - II. Characteristics of the digestive system during postlarval stage. *Jpn. J. Ichthyol.* 18, 164-174.

TAMAZOUZT L., DUBOIS J.-P., FONTAINE P., 1993 - Production et marché actuels de la perche (*Perca fluviatilis*) en Europe. *La pisciculture française* n° 114, 4-8.

TEROFAL F., 1987 - Les poissons d'eau douce. La nature en couleurs. Editions Solar, Paris, 1987, 287 p.

THORPE J. E., 1977 - Synopsis of biological data on the perch (*Perca fluvatilis*) and *Perca flavescens* (Mitchill). FAO, *Fisheries Synopsis* n°113, 139 p.

ÜEBERSCHÄR B. F. R., 1988 - Determination of the nutritional conditions of individual marine fish larvae by analysing their proteolytic activities with a hightly sensitive fluorescence technique. *Meeresforsch*, 32, 144-155.

VAN DAMME P., JANSSEN G., OLLEVIER F., 1989 - Proteolytic enzymes in *Clarias gariepinus* (Bruchell, 1822) larvae fed with dry diets. *Eur. Aqu. Soc.* Special publication n°10, 255-256.

VERRETH J., 1991 - Physiology of the digestive system. In *Fish larvae Nutrition.* First international course on Wagensigen Agricultural Univ. Depatment of fish Culture and Fisheries. Wageningen, The Nederlands.

VERRETH J., EDING E.H., RAO G.R.M., HUSKENS F. et SEGNER H., 1993 - A review of feeding practices, growth, and nutritional physiology in larvae of the catfishes *Clarias gariepinus* and *Clarias batrachus. J. World Aquac. Soc.* 24, 135-144.

VERRETH J., POLAT A., VAN HERWAARDEN H., CONCEICAO L. et HUISMAN E.A., 1994 - A comparison of methods to study energy resource partitioning in early life stages of freshwater fish, with special reference to the African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). ICES *Mar. Symp. Series*, (in press).

WALFORD J., LAM T. J., 1992 - Development of digestive tract and proteolytic enzyme activity in sea bass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles. *Aquaculture* 109, 2, 187-205.

WATANABE T., 1985 - Importance of the study of broodstock for further development of aquaculture. In *Nutrition and Feeding of Fish.* C.B. Cowey, A.M. Mackie and J.G. Bell (Eds.). Academic Press, London, 395-414.

WEINHART G. et RÖSCH R., 1991 - Food intake of larvae of *Coregonus lavaretus* L..Do they really ingest less dry diet than *Artemia* nauplii? In : P.LAVENS, P. SORGELOOS, E. JASPERS and F. OLLEVIER; Larvi '92, *Eur. Aquacult.* Soc., Spec. Publ. n°15, Gent, Belgium.

WEST G. R., 1977 - Perch fingerlings production for aquaculture. Proceedings of a conference held at the university of Wisconsin, 40-52.

WHITESIDE M. C., 1985 - Factors affecting the early life history of yellow perch (*Perca flavescens*). *Environmental. Biology* of Fishes, vol 12, n°1, 47-56.

WU L., CULVER D., 1992 - Ontogenic diet shift in Lake Erie age-o Yellow perch (*Perca flavescens*) : a size related response to zooplankton density. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 49, 1932-1937.

YAGER T. K., SUMMERFELT R.C., 1993 - Feeding frequency effects on metabolism of juvenile walleye. *Aquac. Eng.*, 21-23, 8-15.

YAMAGAMI K., 1988 - Mechanism of hatching in fish. In : *Fish Physiology*, vol. XI A, 447-499.

YONGJIU C., SUMMERFELT R. C., 1992 - Effects of temperature and size on oxygen consumption and ammonia excretion of walleye. *Aquaculture*, 104, 127-138.

ZAMBONINO INFANTE J. L., CAHU E., 1994 - Development and reponse to a diet change of some digestive enzymes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Fish Physiol. and Biochem.* vol. 12, n°15, 399-408.

nnexe II.1: Composition des traitements 1 à 6 (cfr. Figure 2.39):

	1	2	3	4	5	6
Sources de protéine*						
Farine de poisson						
Type I	100	50	80	100	90	90
Farine de poisson						
Type II		50	13			
Caséine			7			
Farine de sang					10	
Farine de soja						10
Composition chimique						
Humidité	6,9	5,3	5,6	6,4	5,5	5,6
Protéines	68	68,6	66,3	60,1	60,6	59,6
Lipides	14,9	13,5	17,7	14,9	16,6	16,1
Résidu sec	10,8	8,2	9,1	9,3	9,1	9,1
Phosphore	1,8	1,2	1,62	1,66	1,46	1,56

*: les farines fournissent les proportions stipulées en protéines aux repas.

Annexe III.1: Composition des *Artemia* (=aliment vivant).

%age en protéines	45,2
Taux d'humidité des cystes	<5%
Σ w-3 - HUFA	>10mg/g
lipides	7,6% de la matière sèche

Annexe III.2: Composition de l'aliment artificiel LANSY.

Protéines	45,4 %
Lipides	15,5 % min.
Carbohydrates	20 %
Cendres	8,5 % max.
Taux d'humidité	6 %
Σ w3 - HUFA	40 mg/g
22:6 w3	25 mg/g
22:5 w3	12 mg/g

Annexe III.3: Composition de l'aliment artificiel Seabream.

%age en protéines	57,9
lipides (%)	4

Annexe III.4: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur la biomasse finale (logarythme des valeurs) avec le régime (témoin, sevrage à 7, 18, 56 et 112 mg) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	22,532	4	5,633	48,56	SS
bassin/rég.	0,581	5	0,116	0,86	NS
résiduelle	5,410	40	0,135		
totale	28,523	49			

Annexe III.5: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur la biomasse finale (logarythme des valeurs) avec le régime (sevrage en 11, 21 ou 24 jours) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	1,095	2	0,547	1,829	NS
bassin/rég.	0,899	3	0,299	24,3	SS
résiduelle	0,296	24	0,012		
totale	2,290	29			

Annexe III.6: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur la biomasse finale (logarythme des valeurs) avec le régime (*Artemia*, LANSY ou Seabream) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	9,191	2	4,595	27,85	NS ($p<0,01$)
bassin/rég.	0,496	3	0,165	4,724	SS ($p< 0,01$)
résiduelle	0,84	24	0,035		
totale		29			

Annexe III.7: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur l'activité trypsique spécifique à 38 jours avec le régime (témoin ou larves sevrées à 18 mg) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	0,124	1	0,124	4,000	NS
bassin/rég.	0,063	2	0,031	67,83	SS
résiduelle	0,002	4	0,00045		
totale	0,189				

Annexe III.8: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur l'activité trypsique spécifique à 28 jours avec le régime (*Artemia*, LANSY ou Seabream) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	2,967	2	1,4840	161,0	NS
bassin/rég.	0,027	3	0,0092	7,77	SS ($p<0,01$)
résiduelle	0,007	6	0,0012		
totale	3,002				

Annexe III.9*: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur l'activité chymotrypsique spécifique à 28 jours avec le régime (*Artemia*, LANSY ou Seabream) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	15,408	2	7,70	23,33	S ($p<0,05$)
bassin/rég.	0,990	3	0,33	2,75	NS
résiduelle	0,694	6	0,12		
totale	17,093				

Annexe III.9: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur l'activité pepsique spécifique à 28 jours avec le régime (*Artemia*, LANSY ou Seabream) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	6,845	2	3,425	1,242	NS
bassin/rég.	8,274	3	2,758	27,3	SS
résiduelle	0,605	6	0,101		
totale	15,729				

Annexe III.10: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur l'activité trypsique spécifique à 55 jours avec le régime (sevrage réalisé en 11, 21 ou 24 jours) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	0,125	2	0,063	0,42	NS
bassin/rég.	0,452	3	0,151	279,6	SS
résiduelle	0,003	6	0,00054		
totale	0,581				

Annexe III.11: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur l'activité chymotrypsique spécifique à 55 jours avec le régime (sevrage réalisé en 11, 21 ou 24 jours) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	1,866	2	0,933	0,56	NS
bassin/rég.	4,910	3	1,637	85,2	SS
résiduelle	0,115	6	0,019		
totale	6,892				

Annexe III.12: ANOVA 2 hiérarchisée mixte sur l'activité pepsique spécifique à 55 jours avec le régime (sevrage réalisé en 11, 21 ou 24 jours) comme critère fixe et le bassin (duplicat) comme critère aléatoire.

	S.C.E.	dl	C.M.	Fobs.	effet
régime	0,486	2	0,243	0,127	NS
bassin/rég.	5,728	3	1,909	191,9	SS
résiduelle	0,062	6	0,010		
totale	6,276				

Annexe III.13: Valeurs des 2 mesures (= réplicats de l'échantillon) des activités spécifiques des larves en fin d'expérience 3, chaque fois, dans 2 bassins (cf. *).
Note: le nom de l'enzyme mesurée est indiqué vers la gauche.

Trypsine	Témoin	Témoin *	LANSY	LANSY *	Seabream	Seabream *
	0,423	0,341	0,095	0,195	1,286	1,386
	0,465	0,360	0,175	0,175	1,210	1,310
Chymo	Témoin	Témoin *	LANSY	LANSY *	Seabream	Seabream *
	4,39	4,21	1,76	1,21	1,93	2,48
	5,38	3,89	1,53	2,00	2,42	2,95
Peps	Témoin	Témoin *	LANSY	LANSY *	Seabream	Seabream *
	1,457	1,467	1,69	0,44	1,136	4,305
	1,424	1,393	1,36	1,19	1,856	4,26

Annexe III.14: Valeurs des 2 mesures (= réplicats de l'échantillon) des activités spécifiques des larves en fin d'expérience 1, chaque fois, dans 2 bassins (cf. *).
Note: le nom de l'enzyme mesurée est indiqué vers la gauche.

chymo	Témoin	Témoin *	tft. 18 mg	tft. 18 mg *	tft. 112 mg	tft. 112 mg *
	0,96	4,09	1,28	0,41	1,56	0,0001
	1,40	4,38	1,39	0,0001	1,63	0,00015

peps	Témoin	Témoin *	tft. 18 mg	tft. 18 mg *	tft. 56 mg	tft. 56 mg *	tft. 112 mg	tft. 112
	1,861	2,275	1,256	2,346	0,474	1,441	0,864	1
	1,808	2,059	1,271	1,849	,571	1,426	0,905	1

Annexe III.15: Valeurs des 2 mesures (= réplicats de l'échantillon) des activités spécifiques des larves en fin d'expérience 2, chaque fois, dans 2 bassins (cf. *).
Note: le nom de l'enzyme mesurée est indiqué vers la droite.

Sevrage 11 j	Sevrage 11 j *	Sevrage 21 j	Sevrage 21 j *	Sevrage 24 j	Sevrage 24 j *	Trypsine
0,223	0,423	0,4	0,287	0,254	0,836	
0,171	0,441	0,43	0,270	0,222	0,871	

Sevrage 11 j	Sevrage 11 j *	Sevrage 21 j	Sevrage 21 j *	Sevrage 24 j	Sevrage 24 j *	chymoTrypsine
1,16	0,4	2,24	0,68	0,17	1,25	
0,96	0,3	2,53	0,77	0,01	1,50	

Sevrage 11 j	Sevrage 11 j *	Sevrage 21 j	Sevrage 21 j *	Sevrage 24 j	Sevrage 24 j *	Peps
0,868	2,52	2,945	1,037	1,544	1,558	
0,776	2,58	2,773	1,361	1,585	1,517	

Annexe III.16: Logarithme des valeurs de la biomasse finale atteinte par les larves de l'expérience 1, chaque fois, dans 2 bassins (cf. *).

émoin	Témoin *	Transfert 7 mg	Transfert 7 mg*	Transfert 18 mg	Transfert 18 mg*	Transfert 56 mg	Transfert 56 mg*	Transfert 112 mg	Transfert 112 mg*
,45	4,62	2,76	2,29	2,98	3,09	3,87	4,19	4,1	4,21
,36	4,27	2,61	2,67	2,95	3,44	4,1	4,04	3,99	4,05
,60	4,08	2,54	2,74	3,18	3,54	4,03	3,98	4,08	4,39
,47	3,99	2,56	2,38	3,23	3,38	3,82	4,19	4,14	4,19
,49	4,34	2,44	2,3	3,13	3,65	3,96	3,93	4,16	4,23

Annexe III.17: Poids des poissons en fin d'expérience 1, pour les 2 (cf. *) bassins d'un même régime.
Note: le lot témoin de larves est nourri d'*Artemia* et les autres lots sont sevrés en 4 jours, aux poids moyens respectifs indiqués.

Témoin	Témoin *	Tft. 7 mg	Tft. 7 mg *	Tft. 18 mg	Tft. 18 mg *	Tft. 56 mg	Tft. 56 mg *	Tft. 112 mg	Tft. 112 mg *
370,5	476,3	58,7	13,0	42,0	44,1	111,0	246,9	126,1	220,8
301,6	212,6	40,8	31,8	39,3	98,2	189,1	175,6	97,6	152,5
520,0	137,7	35,0	37,2	67,0	124,8	162,0	156,5	121,0	333,3
387,0	113,3	36,5	17,4	74,2	86,8	98,7	253,2	139,6	209,8
407,0	248,3	27,6	13,4	59,3	160,2	136,6	136,3	143,4	229,0

Annexe III.18: Logarithme des valeurs de la biomasse finale atteinte par les larves de l'expérience 3, chaque fois, dans 2 bassins (cf. *).

Témoin	Témoin *	LANSY	LANSY *	Seabream	Seabream *
3,98	3,95	2,93	2,22	3,65	4,07
4,13	3,96	2,91	2,19	3,62	3,72
3,93	3,72	2,79	2,62	3,45	3,99
3,99	3,95	2,71	2,62	3,78	3,54
3,79	3,91	2,77	2,69	3,72	3,33

Annexe III.19: Logarithme des valeurs de la biomasse finale atteinte par les larves de l'expérience 2, chaque fois, dans 2 bassins (cf. *).

Sevrage 11 j	Sevrage 11 j *	Sevrage 21 j	Sevrage 21 j *	Sevrage 24 j	Sevrage 24 j*
4,01	3,99	4,21	3,57	3,54	3,52
4,05	4,24	4,15	3,65	3,81	3,84
3,94	4,19	4,38	3,54	3,6	3,49
4,01	4,36	4,31	3,75	3,59	3,79
4,1	4,16	4,18	3,85	3,74	3,57