



THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES BIOLOGIQUES

Étude comparative de la dynamique de la vitellogenèse chez les Cyprinidés pondueurs uniques et multiples

Heine, Renaud

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.

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



**Etude comparative de la dynamique de la
vitellogenèse chez des Cyprinidés
pondeurs uniques et multiples**

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

**RENAUD HEINE
1994**

Etude comparative de la dynamique de la vitellogenèse chez des Cyprinidés pondeurs uniques et multiples

HEINE Renaud

Résumé

Cette étude compare la dynamique de la vitellogenèse corrélée à la dynamique de la croissance ovocytaire et aux variations de l'activité hépatique chez un pondeur unique (le gardon, *Rutilus rutilus*) et chez différents pondeurs multiples (la brème bordelière, *Blicca bjoerkna*, l'ablette *Alburnus alburnus* et le goujon, *Gobio gobio*) capturés en milieu naturel (Meuse et Ourthe).

Chez le gardon, l'arrêt brusque de la vitellogenèse juste avant la ponte se traduit par la chute des concentrations en vitellogénine, exprimées par les concentrations de phosphore protéique plasmatique ou PPP (1,72 µg/ml le 30 avril à 0,82 µg/ml le 8 mai) et par une activité hépatique réduite (rapport hépatosomatique minimal, dégénérescence des structures impliquées dans la synthèse de vitellogénine).

Chez la brème bordelière, l'importance accordée à la première population d'ovocytes correspond à des concentrations en PPP élevées juste avant la première ponte (4,87 µg/ml le 9 mai) et une diminution progressive pendant les pontes suivantes (3,21 µg/ml le 24 mai, 1,82 µg/ml le 14 juin). Cette évolution s'observe aussi par la diminution d'activité du foie.

Chez l'ablette et le goujon, l'importance de la recrudescence ovocytaire tout au long des pontes se traduit par des concentrations élevées de PPP au cours de toute cette période (respectivement entre 1,95 et 4,44 µg/ml du 11 mai au 12 juillet et entre 3,04 et 5,31 µg/ml du 26 mai au 21 juin) et par une activité hépatique soutenue montrant même, chez l'ablette une augmentation pendant les pontes.

La 17β-oestradiol (E2), inducteur de la synthèse de vitellogénine au niveau du foie, a été dosée au cours du cycle de reproduction. Nous avons observé une bonne corrélation entre E2 et PPP sauf en fin de vitellogenèse où l'E2 est encore en concentrations élevées malgré un arrêt de la synthèse de la vitellogénine.

Mémoire de licence en Sciences Biologiques

Décembre 1994

Promoteur : J.-C. Micha

Un travail de fin d'étude n'est pas une chose aussi personnelle qu'on pourrait le penser. C'est pourquoi je tiens à remercier chaleureusement les personnes sans lesquelles il n'aurait pas été possible.

J'exprime ma gratitude au Professeur J.C. MICHA pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Merci au Docteur P. KESTEMONT pour avoir supervisé mon travail et éclairé celui-ci de ses conseils avisés.

Merci à Jacques RINCHARD pour son aide précieuse et ses conseils efficaces ainsi que pour son dévouement et son hospitalité.

Merci aux techniciens du laboratoire : Yves MINÉ, Pierre FOSSION et André EVRARD ainsi qu'au doctorant Jacques DIDIER pour leur aide au cours des pêches.

Merci au Professeur R. LÉLOUP pour m'avoir accueilli dans son Département d'Histologie-Embryologie ainsi que dans son Unité de Microscopie Electronique.

Merci à Messieurs R. DEOM, M. LOMBET et à Mesdames M. LECLERQ, C. DEVIGNON et M.F. SIX pour leur aide et leur conseils dans la partie histologique et cytologique de ce travail.

Merci au Professeur A. FOSTIER pour nous avoir fourni les produits nécessaires au dosage des stéroïdes.

Merci au Professeur R. PAQUAY pour avoir mis à notre disposition son matériel.

Merci enfin à mes parents pour leur soutien et leurs encouragements perpétuels.

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

	1
1. L'ovogenèse chez les poissons femelles ovipares	1
1.1. Le stade protoplasmique	1
1.2. La vitellogenèse	2
1.2.1. La vitellogenèse endogène	2
1.2.2. La vitellogenèse exogène	3
1.2.2.1. La vitellogénine	3
1.2.2.1.1. La lipovitelline	4
1.2.2.1.2. La phosvitine	4
1.2.2.1.3. Le composant β	4
1.2.2.2. Les méthodes de dosage de la vitellogénine dans le plasma	6
1.2.2.2.1. Les avantages des méthodes biochimiques	6
1.2.2.2.2. Les désavantages des méthodes biochimiques	7
1.2.2.3. Les hormones impliquées dans la synthèse de vitellogénine	8
1.2.2.4. Le foie	8
1.2.2.4.1. L'ultrastructure des cellules hépatiques	9
1.2.2.4.2. Les hépatocytes en tant que lieu de synthèse de la vitellogénine	10
1.2.2.4.3. Les structures hépatiques impliquées dans la synthèse de vitellogénine	10
1.2.2.5. L'incorporation de la vitellogénine par les ovocytes	11
1.2.2.5.1. Le passage de la vitellogénine à travers les enveloppes folliculaires	12
1.2.2.5.2. Le récepteur membranaire de la vitellogénine	12
1.2.2.5.3. La compartimentation post-endocytique	12
1.2.2.5.4. L'incorporation de la vitellogénine en relation avec la taille des follicules	13

1.2.2.5.5. Les modifications de la composition en protéines vitellines de l'ovocyte	14
1.3. La maturation finale	14
1.4. L'ovulation	15
1.5. Les follicules atrétiques	16
2. Les modifications plasmatiques et hépatiques au cours de la vitellogenèse	17
2.1. Les modifications plasmatiques au cours du cycle sexuel	17
2.1.1. La vitellogénine	17
2.1.2. La 17 β -oestradiol	19
2.1.3. Le phosphore protéique	20
2.1.4. Le calcium	21
2.1.5. Les lipides	21
2.1.6. Le glucose	22
2.2. Les modifications hépatiques au cours du cycle sexuel	23
2.2.1. Le rapport hépatosomatique et la contribution du foie au cours du cycle sexuel	23
2.2.2. Les protéines	23
2.2.3. Les carbohydrates	24
2.2.4. Les lipides	24
2.2.5. L'ultrastructure des hépatocytes	25
3. Les stratégies de ponte chez les poissons Téléostéens et la dynamique de l'ovogenèse	26
3.1. Les stratégies de ponte	26
3.1.1. La ponte unique	26
3.1.2. La ponte multiple	27
3.1.3. La ponte continue	27
3.2. La dynamique du développement ovocytaire	27
3.2.1. Le développement synchrone	27
3.2.2. Le développement groupe-synchrone	28
3.2.3. Le développement asynchrone	28
 DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES	 29
1. Les espèces cibles	29
2. Sites, dates et méthodes de capture	29
3. Mesure des paramètres morphologiques	32
3.1. Les facteurs de condition	33
3.2. Le rapport gonadosomatique	33

3.3. Les rapports hépatosomatiques	34
4. Les prélèvements sanguins et les différents dosages	34
4.1. Le dosage du phosphore protéique	34
4.2. Le dosage de la 17 β -oestradiol	35
4.2.1. Extraction de la 17 β -oestradiol	35
4.2.2. Dosage proprement-dit de la 17 β -oestradiol	35
5. Histologie des ovaires	37
5.1. Coupes et coloration	37
5.2. Observations des coupes	38
6. Histologie et cytologie du foie	40
6.1. Histologie du foie	40
6.1.1. Mise en évidence du glycogène hépatique	41
6.1.2. Mise en évidence des lipides hépatiques	41
6.1.2.1. Brome-Soudan noir B pour les lipides	41
6.1.2.2. Sulfate-Bleu de Nil pour les phospholipides et les graisses neutres	41
6.2. Cytologie du foie	41
7. Analyses des résultats	42
 TROISIEME PARTIE : RESULTATS	 44
1. Evolution des paramètres morphologiques	44
1.1. Le rapport gonadosomatique	44
1.2. Les facteurs de condition	46
1.3. Les rapports hépatosomatiques	47
2. Evolution temporelle de la 17 β -oestradiol	48
3. Evolution temporelle du phosphore protéique plasmatique	49
4. Evolution du phosphore protéique plasmatique et de la 17 β -oestradiol en fonction des stades de maturité	51
5. Evolution histologique du foie	53
5.1. Evolution du glycogène	53
5.2. Evolution des phospholipides	55
5.3. Evolution des glycérides	56
6. Evolution cytologique du foie	56
6.1. La vitellogenèse endogène	57
6.2. La vitellogenèse exogène	57
6.3. La maturation	57
6.3. La préparation à une nouvelle ponte	57
6.4. La postponte	58

QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION	62
1. Considérations sur l'étalement du cycle sexuel	62
2. Considérations sur la croissance ovocytaire	63
3. Considérations sur les modifications hépatiques	65
4. Considérations sur l'évolution de la 17 β -oestradiol et du phosphore protéique plasmatique	68
5. Considérations sur les avantages et les désavantages de la stratégie de ponte	71
CINQUIEME PARTIE : RESUME, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	73
BIBLIOGRAPHIE	.
ANNEXES	

ERRATA

- Remerciements, ligne 26: lire "soutien" au lieu de "soutient";
- Introduction, première page: ne pas tenir compte des lignes 14, 15 et 16;
- Page 5, ligne 27: lire "7,6" au lieu de "7600";
- Page 6, ligne 31: lire "méthodes" au lieu de "méthode";
- Page 6, ligne 32: lire "investissements" au lieu de "investissement";
- Page 8, ligne 16: lire "sécrètent" au lieu de "secrète";
- Page 10, ligne 22: lire "d'ARNm" au lieu de "de ARNm";
- Page 10, ligne 30: lire "lisses" au lieu de "lisse";
- Page 16, ligne 33: lire "*corpora lutea*" au lieu de "*corpus luteum*";
- Page 16, verso, tableau 1: lire "concentration mg/ml" au lieu de "concentration ng/ml";
- Page 20, ligne 10: lire "la principale" au lieu de "la seule";
- Page 40, ligne 10: lire "cytologiques" au lieu de "cytologique";
- Page 53, dernière ligne: lire "régulière" au lieu de "régulières";
- Page 69, lignes 15 et 26: lire "observée" au lieu de "observées";
- Page 69, ligne 34: lire "maintien" au lieu de "maintient";
- Page 70, ligne 19: lire "demeurent" au lieu de "demeure";
- Page 70, lignes 21 et 32: lire "maintien" au lieu de "maintient";
- Page 72, ligne 7: lire "différente" au lieu de "différentes";
- Page 74, ligne 6: lire "suivis" au lieu de "suivi";
- Page 75, lignes 12, 13 et 14: lire " $\mu\text{g/ml}$ " au lieu de "ng/ml";
- Page 76, ligne 8: lire "du reste" au lieu de "reste";
- Page 76, ligne 10: lire "poissons" au lieu de "poisson".

Introduction

En milieu naturel et indépendamment de la période à laquelle ils se reproduisent, les poissons ovipares présentent 3 stratégies de ponte : la ponte unique, la ponte multiple et la ponte continue (Mac Evoy et Mac Evoy, 1992). Cependant, dans nos régions nous ne rencontrons pas de poissons à ponte continue, ceux-ci étant associés aux régions tropicales et équatoriales.

Les pondeurs uniques concentrent leur potentiel reproductif sur une seule ponte. Ce groupe comprend deux grands types de poissons : les poissons sémelpares qui ne se reproduisent qu'une fois dans leur vie et les itéropares qui ne pondent qu'une fois par an mais pendant plusieurs années. Les pondeurs multiples sont itéropares par définition, ils peuvent pondre plusieurs fois pendant la même période de reproduction et cela pendant plusieurs années. Les pondeurs multiples sont itéropares par définition. Ils pondent plusieurs fois pendant la période de reproduction et cela, pendant plusieurs années.

Parmi les quatre espèces étudiées, le gardon (*Rutilus rutilus*), un pondeur unique itéropare, possède un développement ovocytaire groupe-synchrone. Ses ovaires présentent donc au moins deux populations d'ovocytes à savoir : des ovocytes protoplasmiques et des ovocytes en croissance qui atteindront leur maturité au même moment. C'est cette population d'ovocytes qui sera pondue.

Les trois autres espèces choisies : la brème bordelière, *Blicca bjoerkna*, l'ablette, *Alburnus alburnus* et le goujon *Gobio gobio* sont des pondeurs multiples avec un développement ovocytaire asynchrone. Tous les stades ovocytaires sont présents dans l'ovaire sans prédominance d'une classe particulière. Ces poissons seront à même de pondre plusieurs fois au cours de leur saison de reproduction.

La dynamique de développement de ces populations d'ovocytes variant d'une espèce à l'autre, comme le signalent Selman et Wallace (1981), il s'avérerait intéressant d'étudier de façon comparative la croissance ovocytaire de ces différentes espèces et

plus particulièrement la vitellogenèse puisque c'est ce phénomène qui est à la base du développement des ovocytes.

De façon très brève et simplifiée, voici les différentes phases de la vitellogenèse. La 17β -oestradiol est synthétisée au sein de l'ovaire par les enveloppes folliculaires entourant les ovocytes. Cette hormone atteint le foie via la circulation sanguine où elle induit des modifications physiologiques aboutissant à la synthèse de la vitellogénine, principal constituant du vitellus. Cette vitellogénine gagne alors la circulation sanguine puis les ovaires où elle est incorporée dans les ovocytes.

Dans un premier temps, afin de suivre l'évolution plasmatique de la vitellogénine et de la 17β -oestradiol et de pouvoir les comparer chez les espèces étudiées, nous avons dosé ces deux substances dans le plasma. La 17β -oestradiol a été dosée par une méthode radioimmunologique et la vitellogénine par une technique biochimique indirecte (dosage du phosphore protéique plasmatique). Nous avons mis les concentrations obtenues en relation avec le stade de maturité de chaque individu déterminé par une analyse histologique des ovaires.

Le suivi de la vitellogénine et de l'oestradiol a fait l'objet de nombreuses études chez des poissons marins (commerciallement intéressants) et chez les Salmonidés. Chez les Cyprinidés de nos régions, peu d'études de ce genre ont été entreprises sur les espèces étudiées ici si ce n'est sur le goujon, espèce pour laquelle de récentes études concernant la dynamique de l'ovogenèse (Kestemont, 1987 et 1990) et les stéroïdes plasmatiques (Rinchard, 1992; Rinchard et al., 1993) ont été réalisées. Néanmoins, les travaux sur des espèces comme la carpe commune (*Cyprinus carpio*) et surtout le poisson rouge (*Carassius auratus*) sont nombreuses et nous ont apportés des renseignements intéressants.

Dans un deuxième temps, le foie étant fortement impliqué dans la vitellogenèse et de façon à comparer ses réactions face aux différentes stratégies de croissance ovocytaire, nous avons également effectué un suivi des modifications hépatiques encourues par les poissons au cours de leur cycle reproducteur et cela par une approche histologique et cytologique. Ainsi au niveau histologique,

nous avons suivi de manière qualitative l'évolution du glycogène, des phospholipides et des glycérides. Au niveau cytologique, nous avons suivi l'évolution ultrastructurale des hépatocytes en relation avec la synthèse de vitellogénine. Les données concernant les Cyprinidés de nos régions ne sont pas légions et encore moins par des approches histologiques et cytologiques. Cette partie de notre travail consiste donc en une première approche globale, descriptive et qualitative, avec ses limites et ses imprécisions. Cependant, l'accumulation de données aussi diverses que nombreuses, impliquant des espèces très éloignées telles que le poisson-chat indien et la truite arc-en-ciel, nous ont permis d'étoffer nos analyses.

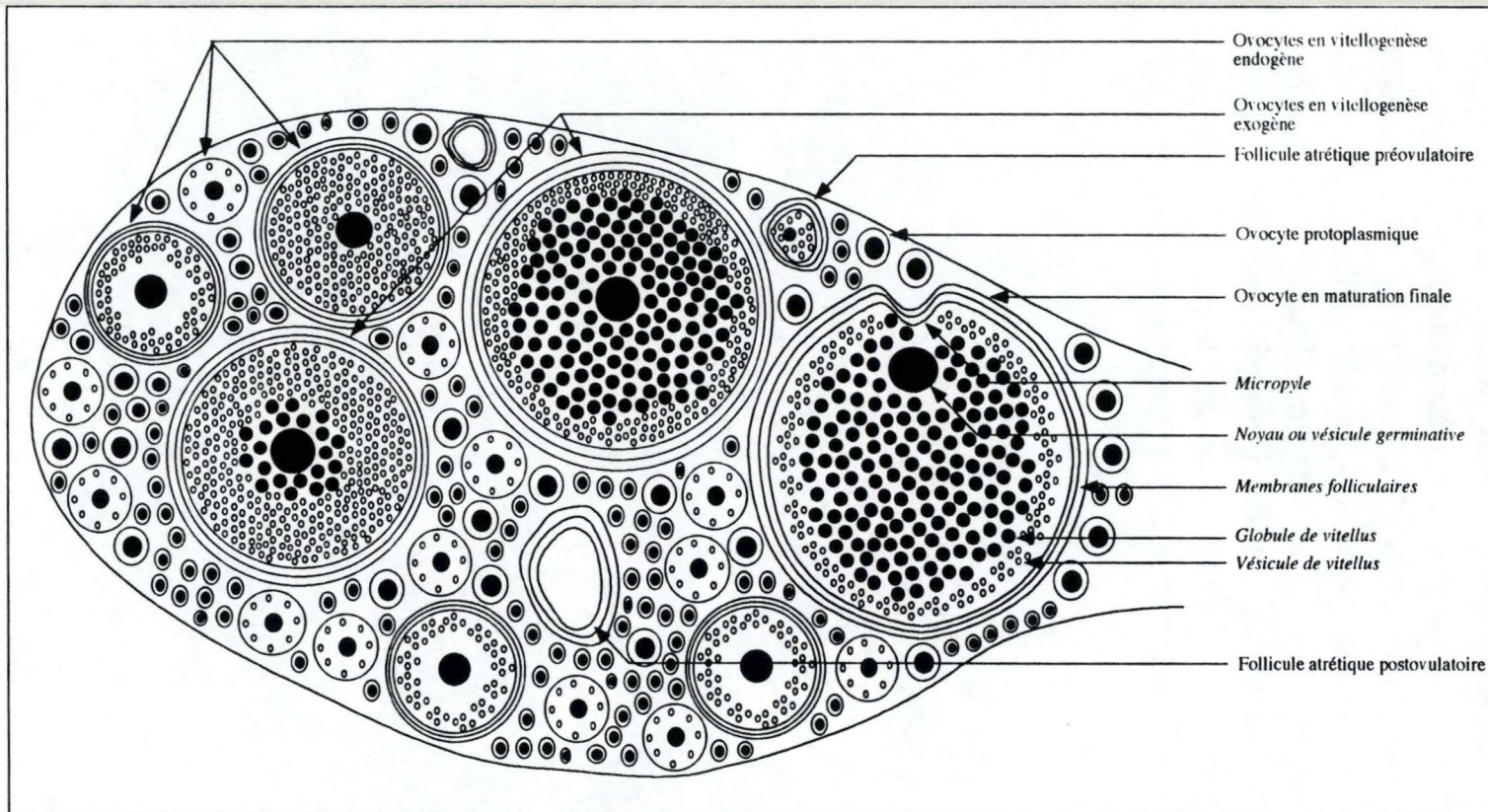


Figure 1 : Représentation schématique des différents stades ovocytaires dans un ovaire de poisson Téléostéen. D'après Rinchard, 1994.

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. L'ovogenèse chez les poissons femelles ovipares

Bien que l'ovogenèse soit un processus physiologique continu, quatre stades principaux ont pu être identifiés chez les Téléostéens (Nagahama, 1983) à savoir :

- le stade protoplasmique;
- la vitellogenèse;
- la maturation finale;
- l'ovulation.

Il existe bien d'autres classifications dans la littérature, chaque auteur ayant souvent sa propre classification, plus ou moins adaptée à l'espèce considérée et au but poursuivi. La figure 1 présente les différents stades ovocytaires qui peuvent être rencontrés dans l'ovaire d'un poisson Téléostéen ovipare. Nous parlerons en plus des follicules atrétiques même si ceux-ci ne font pas à proprement parler partie de l'ovogenèse.

1.1. Le stade protoplasmique

Les ovogonies sont de petites cellules arrondies avec un noyau (également appelé vésicule germinative) occupant la plus grande partie du cytoplasme. Elles se multiplient par mitose et deviennent des ovocytes primaires quand les chromosomes demeurent bloqués en prophase de la première méiose (Nagahama, 1983). Cette phase d'arrêt de la méiose se prolonge jusqu'à la fin de la vitellogenèse. Les ovocytes primaires sont entourés de cellules somatiques qui se différencieront en plusieurs couches pour former les enveloppes folliculaires. Alors que l'ovocyte grandit, le noyau voit sa taille augmenter et de nombreux nucléoles s'accumulent en périphérie de celui-ci.

La plupart des Téléostéens accumulent, durant ce stade des ovocytes, des agrégats de matériel basophile et dense aux électrons dans le cytoplasme périnucléaire (Beams et Kessel, 1973). Ces

agrégats sont en général entourés d'organites cytoplasmiques formant ainsi les "corps de Balbiani" ou "yolk nucleus" qui constitueraient le centre de formation des divers organites nécessaires au dépôt du vitellus (Guraya, 1979).

1.2. La vitellogenèse

La vitellogenèse est l'ensemble des processus physiologiques responsables de l'énorme croissance ovocytaire suite à l'accumulation des substances qui serviront de réserves pour l'embryon au sein de l'ovocyte. Pour donner un exemple de l'ampleur de cette croissance, le jeune ovocyte de truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) a un diamètre d'environ 20 μm et l'oeuf entièrement développé en a un de 4 mm (Nagahama, 1983).

La vitellogenèse est divisée en deux phases :

- la vitellogenèse endogène, au cours de laquelle l'ovocyte synthétise lui-même une partie des substances nécessaires à la survie de l'embryon et à sa protection;
- la vitellogenèse exogène ou vraie, pendant laquelle l'ovocyte accumule la vitellogénine hépatique. C'est au cours de cette phase que l'ovocyte connaît sa croissance la plus importante.

1.2.1. La vitellogenèse endogène

Au cours de cette phase sous dépendance gonadotrope, on assiste généralement à l'apparition de deux types de matériel vitellin chez les Téléostéens : les gouttelettes lipidiques et les vésicules de vitellus. En général, les gouttelettes lipidiques apparaissent les premières dans la zone périnucléaire et migrent ensuite vers la périphérie durant les stades suivants. Leur apparition peut être considérée comme marquant le début de la vitellogenèse endogène (Shackley et King, 1977). Les phospholipides en sont les principaux constituants du moins dans les premiers stades car plus tard, on observe une prédominance des triglycérides (Wiegand, 1982). Il semble en outre que l'ovaire de truite arc-en-ciel soit capable de continuer à synthétiser des lipides alors que la vitellogenèse exogène se déroule (Wiegand et Idler, 1982).

Les vésicules de vitellus sont de nature mucopolysaccharidique ou glycoprotéique. Elles apparaissent généralement dans la zone

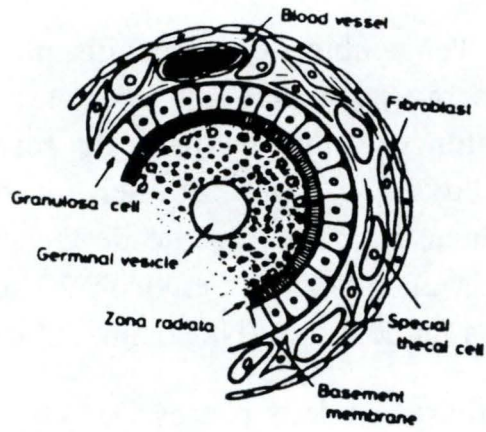


Figure 2 : Enveloppes folliculaires entourant un ovocyte de Salmonidé.
D'après Hoar et Nagahama, 1978.

externe et semi-corticale du cytoplasme ovocytaire. Ces vésicules vont progressivement remplir le cytoplasme suite à leur accumulation centripète. Le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi semblent être impliqués dans leur formation (De Vlaming, 1983). Il est probable également que ces vésicules vitellines soient les précurseurs des alvéoles corticaux.

Au cours de cette phase, les cellules somatiques entourant l'ovocyte vont progressivement se différencier pour former les enveloppes folliculaires. Chez la plupart des espèces, on peut distinguer de la périphérie vers l'ovocyte : la thèque, constituée de cellules thécales, de fibroblastes et de capillaires, et la *granulosa*, séparée de la thèque par la membrane basale (Figure 2). La *granulosa* est unistratifiée et en contact étroit avec l'ovocyte grâce à de nombreuses interdigitations qui s'entrecroisent à travers une couche acellulaire, la *zona radiata*, futur chorion de l'oeuf. Les fonctions des cellules folliculaires sont multiples :

- participation à la formation des enveloppes de l'ovocyte;
- nutrition de la cellule germinale;
- stéroïdogenèse : la 3β -HSDH, enzyme concernée dans la biosynthèse des stéroïdes, a été localisée dans les cellules interstitielles de la thèque et de la *granulosa* selon les espèces et le stade de l'ovogenèse;
- phagocytose : l'activité phagocytaire est l'oeuvre des cellules de la *granulosa*. Cette activité s'exerce aussi bien sur des follicules en cours de développement que sur des enveloppes folliculaires après expulsion de l'ovocyte.

1.2.2. La vitellogénèse exogène

Cette phase également sous dépendance gonadotrope marque le début de l'accumulation de vitellus vrai sous forme de globules au sein de l'ovocyte.

1.2.2.1. La vitellogénine

La vitellogénine (VTG) est une lipoglycophosphoprotéine complexe, capable de se lier au fer et au calcium. Elle est spécifique des femelles matures, mais sa synthèse peut être induite chez des femelles immatures et chez les mâles par un traitement massif aux oestrogènes (Campbell et Idler, 1980; Sundararaj, 1981).

Elle est synthétisée par le foie sous le contrôle d'oestrogènes, transportée via la circulation sanguine jusqu'aux ovaires où elle est séquestrée par les ovocytes en croissance et clivée en lipovitelline et en phosvitine (Selman et Wallace, 1981). Chez les vertébrés ovipares, la VTG subit des modifications posttranslationnelles telles que lipidation, glycosylation et phosphorylation avant d'être sécrétée dans le sang (Tata et Smith, 1979).

Dans la circulation, la VTG apparaît généralement comme un dimère dont le poids moléculaire (PM) varie selon les espèces de 300 kDa chez le tilapia *Oreochromis aureus*, (Ding et al., 1989) à 600 kDa chez le saumon chum *Oncorhynchus keta* ou la truite arc-en-ciel *O. mykiss* (Hara et Hirai, 1978). Il semble néanmoins que la VTG puisse apparaître sous forme monomérique (De Vlaming et al., 1980; Silversand et Haux, 1989). Il faut toutefois noter que certains auteurs (Markert et Vanstone, 1971; Campbell et Idler, 1980) distinguent une troisième sous-unité appelée composant β mais dont l'appartenance à la VTG est controversée (voir 1.2.2.1.3.).

La présence de plusieurs vitellogénines au sein d'une espèce n'est pas encore une règle générale, néanmoins certaines analyses vont dans ce sens (Silversand et al., 1993). C'est le cas par exemple, chez le poisson rouge, *Carassius auratus* (De Vlaming et al., 1980) ou chez le tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Kishida et Specker, 1993). Des études au niveau génétique suggèrent qu'une seule vitellogénine est synthétisée chez la truite arc-en-ciel (Chen, 1983) alors qu'il existerait une famille de gènes VTG chez certains Cichlidés (Lee et al., 1992).

Les principaux constituants de la VTG de truite arc-en-ciel sont les protéines (79%) et les lipides (19%). Les lipides comprennent des phospholipides (70%), des triglycérides (22%) et du cholestérol (8%). La proportion de glucides est d'environ 0,3%, celle de phosphore protéique 0,7% et celle de calcium 0,7% (Fremont et Riazi, 1988). Ces résultats sont comparables en ce qui concerne les lipides et le phosphore protéique, à ceux obtenus par De Vlaming et al. (1980) chez le poisson rouge.

Covens et al. (1987) montrèrent la ressemblance immunologique de VTG de différents Téléostéens parmi lesquels des

espèces marines (le bar commun, *Dicentrarchus labrax*, l'hippocampe moucheté, *Hippocampus ramulosus* et la syngnathe aiguille, *Syngnathus acus*) et des espèces dulcicoles (la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*, le gardon, *Rutilus rutilus* et l'épinoche, *Gasterosteus aculeatus*). Ceci suggère, que des parties de VTG ont été conservées au cours de l'évolution après que les différentes espèces aient évolué à partir d'un ancêtre commun.

1.2.2.1.1. La lipovitelline

La lipovitelline est un des constituants de la VTG. Il s'agit d'une lipoglycophosphoprotéine contenant peu de phosphore protéique mais riche en lipides : respectivement 0,007% et 25% chez la truite arc-en-ciel (Campbell et Idler, 1980).

Il s'agit d'un dimère, composé d'une grande et d'une petite sous-unité. Selon De Vlaming et al. (1980), il existerait chez le poisson rouge deux types de grandes sous-unités (PM : 105 et 110 kDa) et au moins 4 types de petites sous-unités (PM : 19 à 25 kDa). Ces valeurs sont proches de celles trouvées par Hara et Hirai (1978) pour la truite arc-en-ciel (90 et 15 kDa).

1.2.2.1.2. La phosvitine

Ce deuxième composant de la VTG contient, contrairement à la lipovitelline peu de lipides mais est riche en phosphore protéique (15,8%) (Campbell et Idler, 1980). Toujours d'après Campbell et Idler (1980), son PM est de 43 kDa chez la truite arc-en-ciel. Pour Hara et Hirai (1982), elle constitue chez cette même espèce un dimère dont chaque sous unité est de 15 kDa. De Vlaming et al. (1980) montrèrent l'existence chez le poisson rouge de 2 sous-unités constitutives de la phosvitine l'une de 7600 et l'autre de 14,5 kDa.

La phosvitine ne réagit pas aux antisérums dirigés contre la VTG ou la lipovitelline suggérant que ces molécules ont des déterminants antigéniques différents (Covens et al., 1987).

1.2.2.1.3. Le composant β

Cette protéine vitelline fut identifiée en 1968 par Jared et Wallace chez la truite arc-en-ciel. Elle ne contient ni lipides ni

phosphore. Ses caractéristiques biochimiques les amenèrent à la considérer comme une protéine sérique n'ayant rien à voir avec la VTG.

Etudiée chez le saumon coho, *Oncorhynchus kisutch* (Markert et Vanstone, 1971), il s'avéra que son PM est de 30 kDa. En 1980, Campbell et Idler, démontrèrent sa relation immunologique avec la VTG suggérant donc contrairement à Jared et Wallace (1968) qu'elle fait partie du complexe VTG.

1.2.2.2. Les méthodes de dosage de la vitellogénine dans le plasma

On peut diviser ces méthodes en deux grands groupes, à savoir :

- les méthodes biochimiques dont font partie la détermination du phosphore protéique (Martin et Doty, 1949; Wallace et Jared, 1968; Craik et Harvey, 1984) ou encore la détermination du calcium lié à la VTG (Whitehead et al., 1980);
- les méthodes immunochimiques (Goedmakers et Verboom, 1974) et radioimmunologiques (Idler et al., 1979).

Nous allons brièvement passer en revue les avantages et les désavantages du dosage du phosphore protéique vis-à-vis des méthodes immunochimiques et radioimmunologiques puisque c'est cette technique que nous avons utilisée pour estimer l'évolution des concentrations de VTG.

1.2.2.2.1. Les avantages des méthodes biochimiques

Contrairement aux méthodes biochimiques applicables à toutes les espèces, les méthodes immunologiques sont basées sur des antisérums dirigés contre la VTG. Ces antisérums ne réagissent qu'avec la VTG d'espèces étroitement associées. Il arrive même que pour des espèces aussi proches que la truite arc-en-ciel, *O. mykiss* et le saumon Atlantique, *Salmo salar*, il n'y ait pas de réaction. Il faut donc presque autant d'antisérums que d'espèces (Campbell et Idler, 1980; Ng et Idler, 1983).

Les méthodes biochimiques ne demandent pas de gros investissement : matériel de base (tubes en verre, pipettes, spectrophotomètre).

Pour l'utilisation de radioisotopes, des précautions sont à prendre, il faut disposer d'un compteur de radioactivité et posséder un élevage d'animaux de laboratoire producteurs d'antisérum, antisérum qu'il faut en outre purifier. Le radiolabelling de la VTG pour le radioimmunoassay (RIA) n'est pas toujours possible (Idler et al., 1979; Campbell et Idler, 1980). L'utilisation d'anticorps soumet l'expérimentateur aux risques de réactions croisées avec d'autres protéines du plasma (Copeland et al., 1986). Un autre problème est lié à l'existence de plusieurs VTG chez certaines espèces : il n'est pas certain que toutes soient la cible des anticorps.

1.2.2.2.2. Les désavantages des méthodes biochimiques

Les méthodes biochimiques nécessitent de plus grandes quantités de plasma (au minimum 100 μ l) alors que les méthodes immunologiques donnent des résultats pour des volumes allant de 10 à 100 μ l. Il y a donc un risque quand on travaille avec des espèces de petite taille qui donnent moins de sang. De plus, le RIA possède une sensibilité plus élevée de 2 ou 3 ordres de grandeur que les méthodes biochimiques.

Des précautions sont à prendre en comparant des résultats obtenus par différents auteurs. En effet, il existe des variantes du dosage du phosphore protéique. Les différences se situent au niveau des étapes d'extraction, certaines étant ou non réalisées. Cela se reflète au niveau des résultats par des valeurs différentes et en général plus élevées que celles obtenues par la méthode mise au point par Martin et Doty (1949) et modifiée selon Wallace et Jared (1968), car il reste dans ces cas du phosphore associé aux acides nucléiques et à d'autres fractions non extraites. Une variabilité supplémentaire peut également intervenir puisque la VTG peut exister avec différents degrés de phosphorylation qui varient au cours du cycle reproducteur (Van Bohemen et al., 1981). Enfin la méthode biochimique de dosage du phosphore protéique ne permet pas de calculer les concentrations en VTG à moins de connaître le taux de phosphorylation (Craik et Harvey, 1984).

OOCYTE

BLOOD

HEPATOCYTE

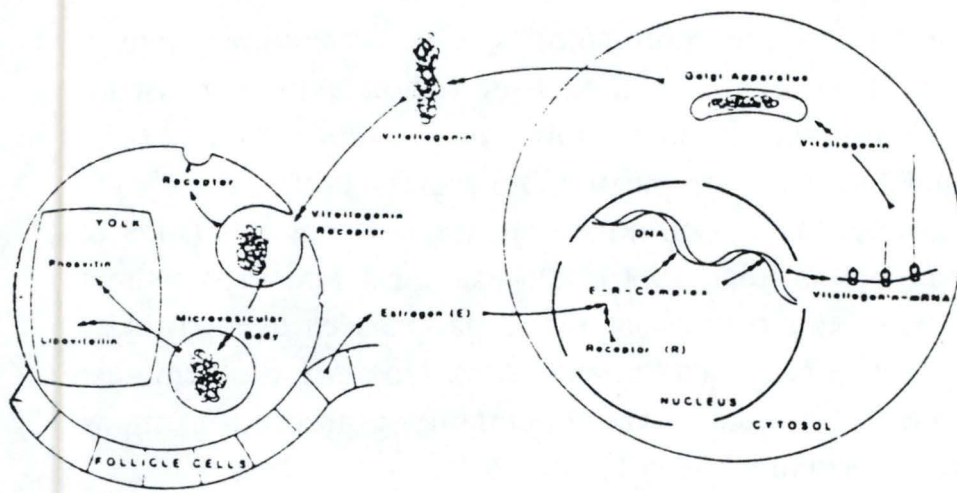


Figure 3 : Feedback simplifié entre l'ovaire et le foie durant la vitellogenèse exogène. D'après Mommsen et Walsh, 1988.

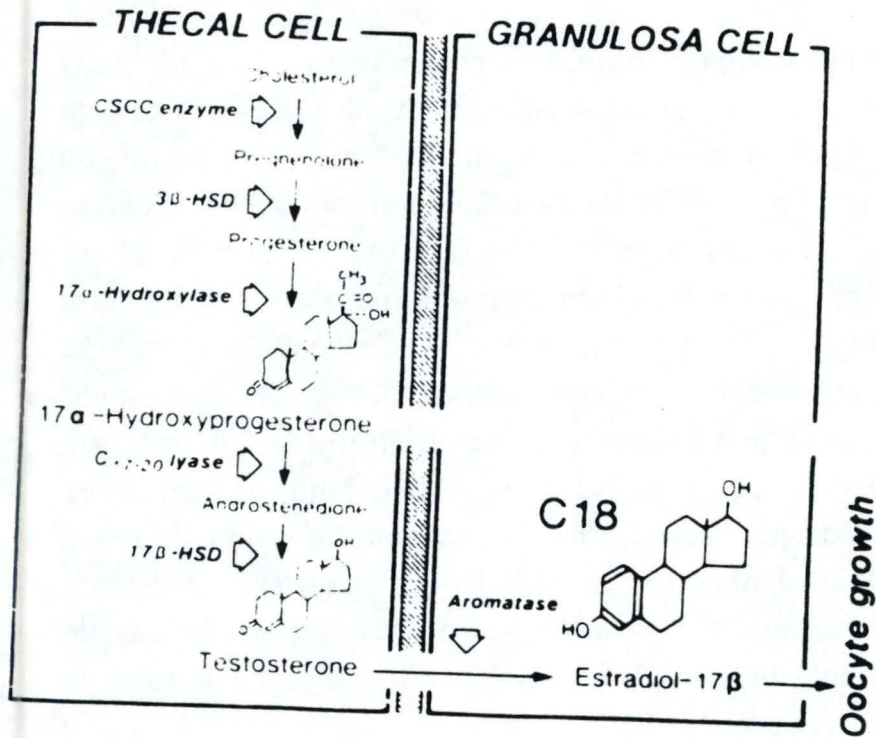


Figure 4 : Modèle des deux types cellulaires pour la production de 17β-oestradiol par les follicules vitellogéniques de Salmonidés. Modifié d'après Yoshikuni et Nagahama, 1991.

1.2.2.3. Les hormones impliquées dans la synthèse de vitellogénine

Les oestrogènes, et en particulier la 17 β -oestradiol, déclenchent la synthèse de VTG par les cellules du foie (Abraham et al., 1986; Burzawa-Gérard et Dumas-Vidal, 1991). L'oestrone et l'oestriol induisent également sa synthèse mais dans une moindre mesure (Sundararaj et Nath, 1981).

La figure 3 présente de manière simplifiée le feed-back entre l'ovaire et le foie durant la vitellogenèse exogène. On y voit la synthèse de la 17 β -oestradiol, sa liaison avec le récepteur hépatique induisant la synthèse de la vitellogénine qui, via le sang, atteint l'ovocyte où a lieu son incorporation et son clivage protéolytique.

Les sites de synthèse de la 17 β -oestradiol (E2) sont les cellules folliculaires. Chez les Salmonidés, les cellules de la thèque et de la *granulosa* sont toutes deux nécessaires à la production de l'hormone. Il existerait donc un modèle de synthèse à deux types cellulaires : les cellules de la thèque sous influence gonadotrope secrète un androgène (la testostérone) qui diffuse dans la *granulosa* où il est le substrat d'une aromatisation typique à cette couche cellulaire, transformant cet androgène en 17 β -oestradiol (Figure 4). Le rôle des androgènes en tant que précurseurs de la 17 β -oestradiol avait déjà été suggéré par Hori et al. (1979) quand ils constatèrent que suite à des injections massives d'androgènes chez le poisson rouge les concentrations plasmatiques de VTG augmentaient.

1.2.2.4. Le foie

Le foie des vertébrés dérive toujours d'une ébauche à la face ventrale de l'intestin moyen. Chez les poissons, l'ébauche peut consister en un diverticule creux ou en une plaque (placode hépatique) due à l'épaississement local de la paroi endodermique. La forme définitive du foie n'est pas forcément en rapport avec celle de l'ébauche hépatique. Il faut plutôt la considérer comme adaptée très étroitement à l'espace laissé libre par les organes voisins. Chez les Téléostéens, la lobation du foie est des plus variable. On connaît dans ce groupe des foies simples (*Anguilla*, *Esox*), bilobés (*Silurus*), trilobés (*Thunnus*) ou pourvus simultanément de trois lobes et de franges en nombre variable (*Cyprinus*). Chez les poissons, il n'existe

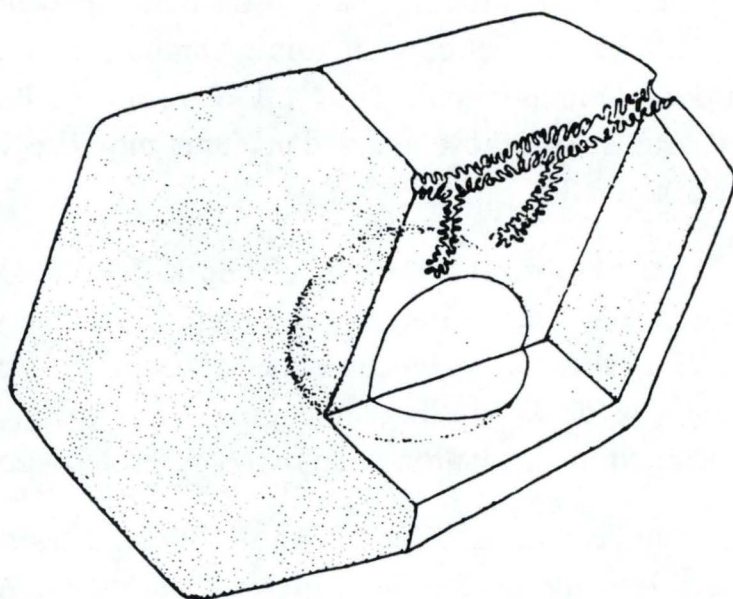


Figure 5 : Schéma montrant le trajet d'un canalicule biliaire dans les hépatocytes des poissons. D'après Byczkowska-Smyk, 1971.

jamais de lobules hépatiques analogues à ceux des vertébrés supérieurs. Toute la glande est un réseau de tubes glandulaires dont les mailles sont occupées par un second réseau de capillaires sanguins. Le passage du système des canaux biliaires isolés et ramifiés au réseau canaliculaire des poissons adultes se fait par une série d'anastomoses. Parmi les remaniements ultérieurs, doit être citée en première ligne l'obstruction partielle de certains canaux par des amas cellulaires (mailles cytozonales) que la bile est obligée de contourner (Grassé, 1958).

1.2.2.4.1. L'ultrastructure des cellules hépatiques

Chez le gardon, *R. rutilus* et le chevaine, *Leuciscus cephalus*, Byczkowska-Smyk (1971) observe un large noyau, typique aux hépatocytes, avec parfois des cellules binucléées, un nucléole assez volumineux indiquant une activité métabolique intense. De plus, elle note la présence d'un grand nombre de vésicules provenant du réticulum endoplasmique lisse (REL) alors que le réticulum endoplasmique rugueux (RER) est moins abondant et localisé dans certaines régions du cytoplasme. Les mitochondries sont diffuses. L'appareil de Golgi est présent au voisinage des canalicules biliaires et à proximité du noyau. Proche des canalicules biliaires, se trouvent également bon nombre de lysosomes et de phagosomes, certains de taille considérable. Alors que chez le chevaine, le glycogène est la principale substance stockée et que les gouttelettes lipidiques sont plutôt rares, elle en trouve de nombreuses chez le gardon. Le glycogène, chez ces deux espèces, est disposé uniformément en forme de rosette. Comme chez les autres Cypriniformes, les canalicules biliaires semblent être intracellulaires. En réalité, ils sont intercellulaires mais développent de long diverticules digités qui pénètrent profondément le cytoplasme (Figure 5). L'espace de Disse (espace situé entre les hépatocytes et les sinusoides hépatiques) est particulièrement développé et rempli de microvilli.

En 1979, Nopenitaya et al. décrivent chez des espèces marines et d'eau douce un nouveau type de cellules périsinusoïdales situées dans l'espace de Disse et adhérant fermement, grâce à des desmosomes, aussi bien aux cellules endothéliales qu'aux hépatocytes. Les microfilaments cytoplasmiques sont remarquables et en font des cellules facilement différenciables des cellules de Ito

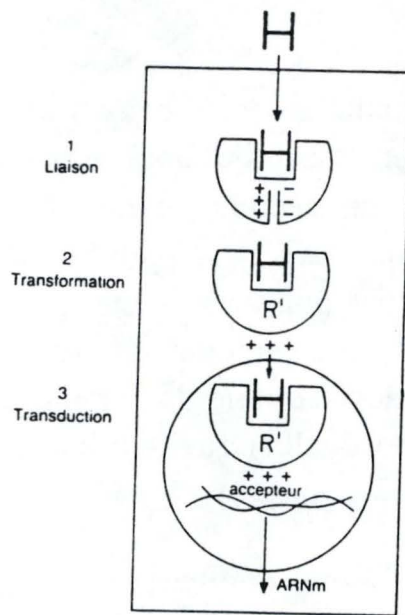


Figure 6 : Schéma du mécanisme d'action des hormones stéroïdiennes. D'après Robel, 1991.

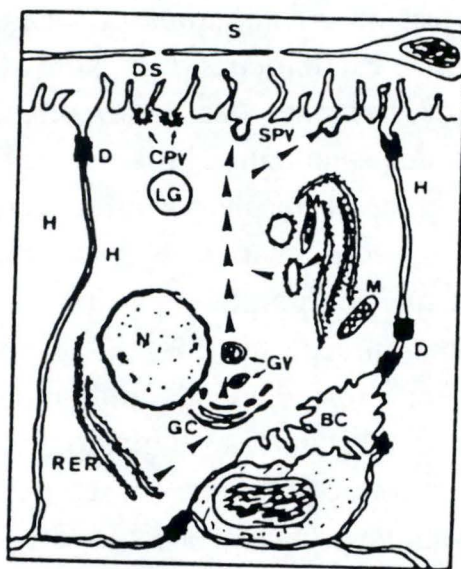


Figure 7 : Structure schématique d'une unité fonctionnelle de foie de sole commune (*Solea vulgaris*). Les flèches indiquent le trajet possible de la vitellogénine dans l'hépatocyte. BC = canalicule biliaire, D = desmosome, DS = espace de Disse, GC = appareil de Golgi, GC = vésicule golgienne, H = hépatocyte, LG = gouttelette lipidique, M = mitochondrie, N = noyau, RER = réticulum endoplasmique rugueux, S = sinusoïde, CPV = vésicule pinocytotique couverte, SPV = vésicule pinocytotique lisse. D'après Nunez Rodriguez et Le Menn, 1986.

qui stockent les graisses. Ces cellules pourraient servir de trame de support dans le foie.

1.2.2.4.2. Les hépatocytes en tant que lieu de synthèse de la vitellogénine

La vitellogénine n'avait jamais été cytologiquement localisée dans les hépatocytes de Téléostéens ou d'autres vertébrés inférieurs, mais des évidences indirectes les suggéraient comme lieu de synthèse de la VTG (Selman et Wallace, 1983).

Maître et al. (1986) et Kwon et al. (1993) ont induit grâce à la 17β -oestradiol, la synthèse de vitellogénine dans une culture d'hépatocytes de truite arc-en-ciel. Kwon et al. (1993) signalent en outre que la synthèse de VTG par des hépatocytes d'anguille japonaise (*Anguilla japonica*) ne peut être induite par l'E2 seule. Par contre, une combinaison de E2, d'hormone de croissance mammalienne et de prolactine s'est révélée efficace, ce qui suppose l'influence de différents facteurs sur la production de VTG induite par l' E2. L'E2 agit vraisemblablement selon le schéma classique du mécanisme d'action des hormones stéroïdes : après liaison de l'hormone à un récepteur spécifique, le complexe oestradiol-récepteur peut interagir avec la chromatine et moduler l'expression du gène de la VTG, ce qui se traduit par une augmentation de la synthèse de ARNm VTG et de VTG (Maître et al., 1985) (Figure 6).

1.2.2.4.3. Les structures hépatiques impliquées dans la synthèse de vitellogénine

Nunez Rodriguez et Le Menn (1986) ont mis en évidence ces structures, chez la sole commune (*Solea vulgaris*).

Une unité fonctionnelle du foie de sole est illustrée à la figure 7. La VTG serait synthétisée au niveau du RER, puis subirait des modifications au niveau du Golgi avant d'être excrétée via des vésicules de sécrétion lisse au pôle apical de la cellule à proximité de l'espace de Disse.

1.2.2.5. L'incorporation de la vitellogénine par les ovocytes

L'ovocyte croît principalement par incorporation sélective de la vitellogénine à partir du sang maternel. Cette incorporation se fait par micropinocytose via des récepteurs spécifiques de la vitellogénine se trouvant en surface de l'ovocyte. La vitellogénine est alors protéolytiquement clivée en protéines vitellines : la lipovitelline et la phosvitine, qui sont stockées sous forme de globules vitellins. Ces différents processus ont fait l'objet d'études chez l'amphibien *Xenopus laevis*, le xénope (Opresko et al., 1980, Opresko et Wiley, 1987 a et b) ainsi que chez différents Téléostéens tels que le fondule *Fundulus heteroclitus* (Selman et Wallace, 1982 b et 1983; Wallace et Selman, 1985), le cyprinodon tacheté *Cyprinodon variegatus* (Selman et Wallace, 1982 a) et la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* (Tyler et al., 1990 et 1991). D'autres publications couvrent le sujet de manière plus générale chez les poissons (Le Menn et al., 1986) et chez les Téléostéens (Abraham et al., 1986).

1.2.2.5.1. Le passage de la vitellogénine à travers les enveloppes folliculaires

Afin d'étudier le passage de protéines à travers le follicule ovarien de *Cyprinodon variegatus* et de *Fundulus heteroclitus*, Selman et Wallace (1982 a et b et 1983) utilisèrent deux traceurs : la peroxydase de raifort (Horse Radish Peroxydase ou HRP) facilement visualisable soit au microscope optique soit au microscope électronique, et également la [³H]VTG de *Xenopus laevis* comme protéine homologue de la VTG afin de "mimer" le plus fidèlement possible le comportement de la VTG. Leurs observations les menèrent aux conclusions suivantes : les produits de réaction de HRP se retrouvent dans la lumière des capillaires péri-folliculaires. On les observe ensuite dans les espaces intercellulaires de l'endothélium capillaire puis dans le stroma de la thèque et dans la lame basale des cellules folliculaires. Ils traversent enfin l'épithélium folliculaire (*granulosa*) empruntant les canaux intercellulaires qui l'interrompent régulièrement.

Ces canaux intercellulaires sont occupés par des processus microvillaires issus de l'ovocyte le long desquels migrent les

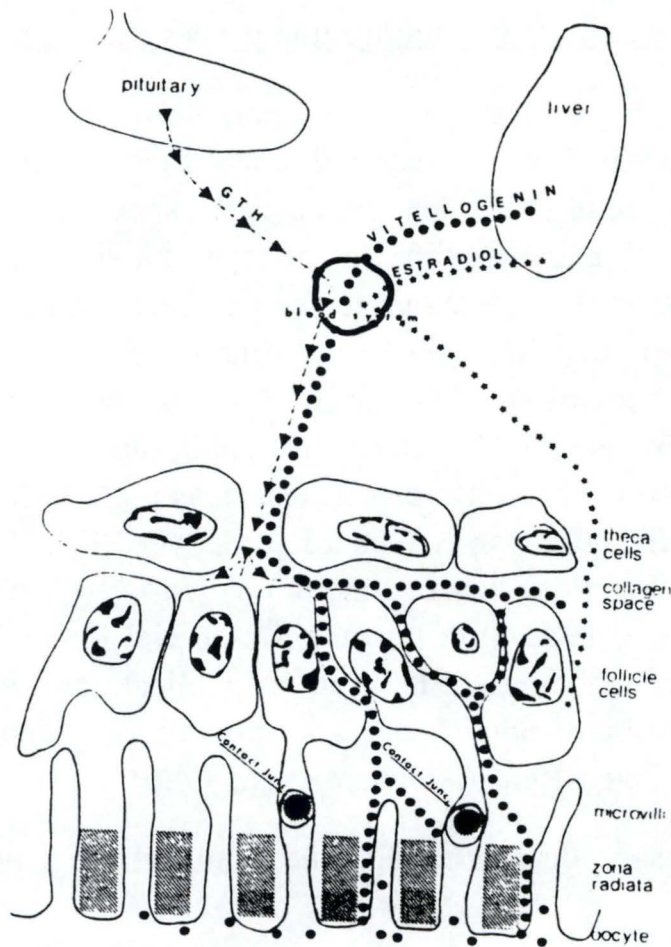


Figure 8 : Représentation schématique du transport de la vitellogénine (●) du foie à l'ovocyte suite à l'action de la GtH (Gonadotropin Hormone) (->) hypophysaire sur les cellules folliculaires et synthèse par ces dernières de 17 β -oestradiol (*) induisant la synthèse de vitellogénine par le foie. D'après Abraham et al., 1986.

produits de réaction de HRP avant d'atteindre la surface de l'ovocyte où a lieu l'incorporation (Figure 8).

On retrouve la [³H]VTG en périphérie de l'ooplasme sous forme de petites sphères ainsi que dans la masse vitelline qui s'étend progressivement du centre de l'ovocyte vers l'extérieur, repoussant ainsi les vésicules vitellines qui formeront les alvéoles corticales.

D'après Abraham et al. (1986), il semblerait que le phénomène d'endocytose apparaît déjà au niveau des microvilli qui envahissent les canaux intercellulaires de l'épithélium folliculaire.

1.2.2.5.2. Le récepteur membranaire de la vitellogénine

Récemment, Stifani et al. (1990) ont caractérisé le récepteur membranaire de la VTG chez le saumon coho : il s'agit d'une protéine d'un poids moléculaire de 100 kDa (en conditions non réductrices) montrant une grande affinité pour la VTG de truite arc-en-ciel ($K_d = 180$ nM). En outre, il apparaît que ce récepteur est très similaire à celui du poulet en ce sens qu'ils sont interchangeables et qu'ils partagent un site commun de liaison pour leur ligand. Une autre observation de ces travaux est que la lipovitelline semble posséder la séquence reconnue par le récepteur suite à l'observation de la liaison directe de lipovitelline de poulet marquée avec le récepteur du poisson.

Le Menn et al. (1986) montrèrent chez la truite arc-en-ciel que la liaison de la phosvitine à des homogénats ovariens varie suivant le pH avec une liaison maximale à pH 6. Il semblerait qu'une matrice de protéoglycannes (mise en évidence chez l'esturgeon sibérien, *Acipenser baeri*) entourant directement l'ovocyte serait nécessaire au maintien du pH optimal pour la liaison aux récepteurs.

1.2.2.5.3. La compartimentation post-endocytique

L'incorporation de la VTG a été beaucoup étudiée chez l'amphibien *Xenopus laevis* (Opresko et al., 1980, Opresko et Wiley, 1987 a et b).

Les récepteurs de surface de la VTG sont continuellement internalisés à l'intérieur des endosomes même s'ils ne sont pas

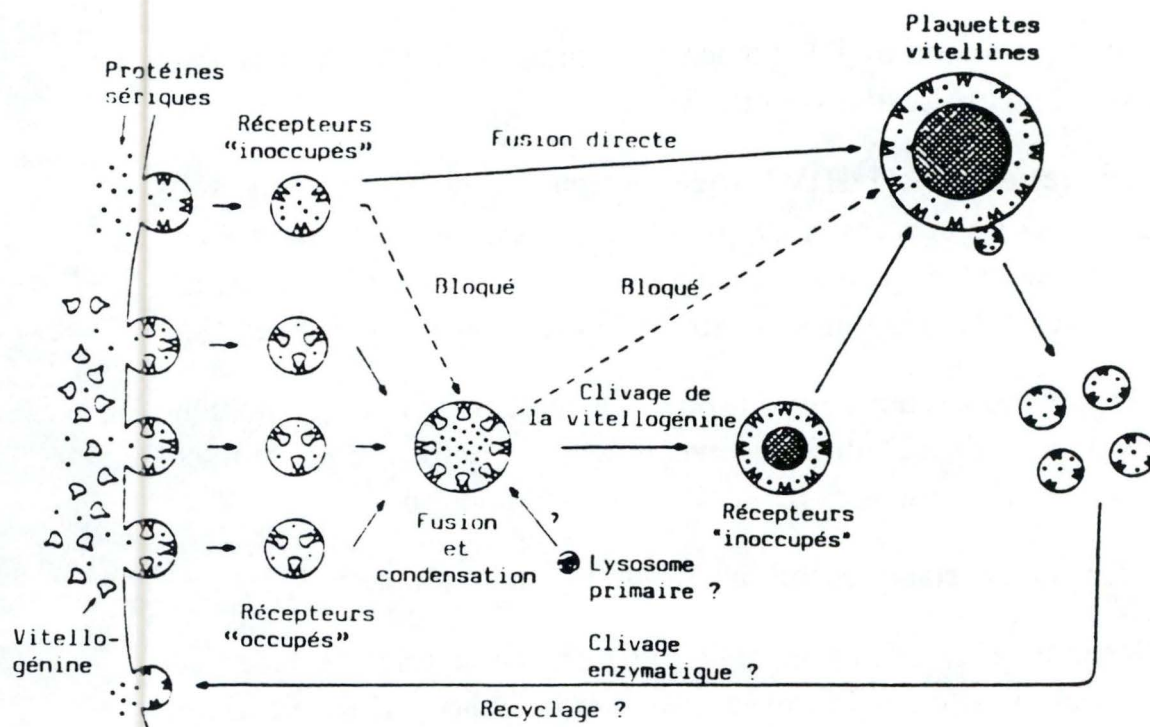


Figure 9 : Modèle de compartimentation post-endocytaire chez le xénope, *Xenopus laevis*. D'après Opresko et al., 1980.

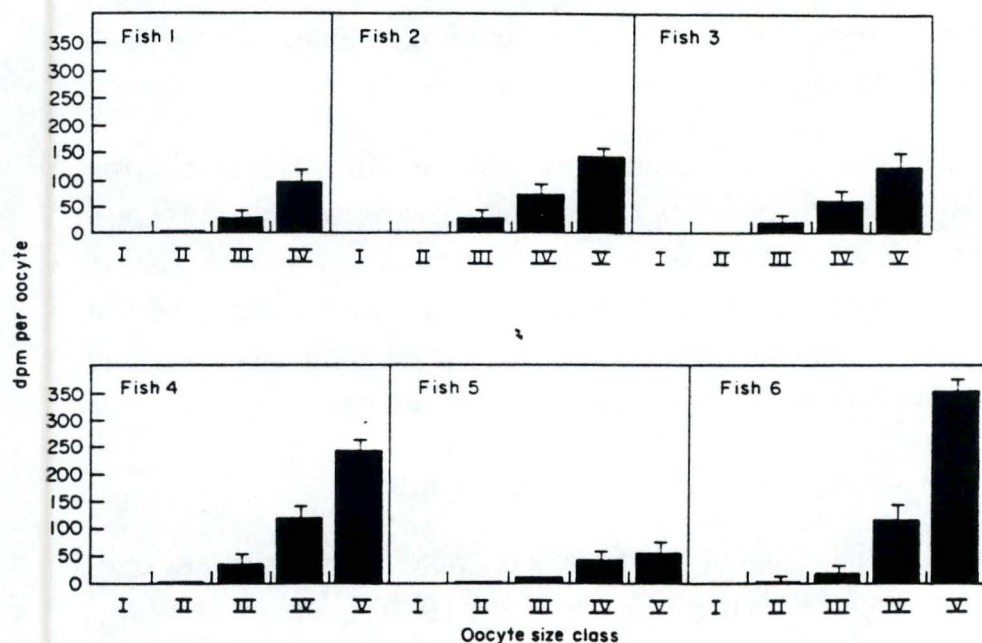


Figure 10 : Incorporation de la $[^3\text{H}]\text{VTG}$ par des ovocytes de différentes tailles au cours de la vitellogénèse chez la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*. Les classes de taille des ovocytes sont : I = < à 0,4 mm, II = de 0,4 à 0,59 mm, III = de 0,6 à 0,79 mm, IV = de 0,8 à 0,99 mm, V = de 1 à 1,2 mm. D'après Tyler et al., 1991.

occupés par la VTG. Les endosomes contenant la VTG internalisée donnent naissance à des corps vitellins de transition. Ces corps fusionnent ensuite pour former les globules vitellins et ce, après clivage protéolytique de la VTG. En absence de VTG, les endosomes semblent fusionner directement entre eux. L'occupation des récepteurs pourrait fonctionner comme un signal transmembranaire qui dirige la compartimentation post-endocytaire des protéines. La protéolyse de la VTG est expliquée par Opresko et al. (1980) comme un moyen de dissociation du complexe VTG-récepteur dans le but de libérer les récepteurs des corps vitellins de transition lesquels peuvent fusionner pour former les globules de vitellus (Figure 9).

1.2.2.5.4. L'incorporation de la vitellogénine en relation avec la taille des follicules

Selman et Wallace (1983), injectèrent de la [³²P]VTG de *Fundulus heteroclitus* à des femelles de cette espèce. Ces femelles furent sacrifiées 20h plus tard et des follicules de différentes tailles furent observés afin d'apprécier l'incorporation de la [³²P]VTG. Ils observèrent deux pics d'incorporation pour deux classes de taille : de 1,0 à 1,1 et de 1,5 à 1,6 mm. Tous les follicules < 0,7 mm n'incorporent pratiquement pas de VTG. Le premier pic d'incorporation est compréhensible, en ce sens qu'il s'agit de follicules en pleine vitellogenèse. Par contre, le second pic correspondant à des follicules subissant la maturation est plus surprenant. Voici, d'après Selman et Wallace (1983) une tentative d'explication : les macromolécules maternelles (spécialement la VTG) rendues accessibles à l'ovocyte pendant la vitellogenèse verraient leur accès diminuer quand l'ovocyte atteint sa taille vitellogénique maximale (1,3 mm). Avec le début de la maturation, un changement de "l'architecture" folliculaire rendrait temporairement la VTG accessible à l'ovocyte. Cette nouvelle séquestration se termine lorsque l'ovocyte a atteint un diamètre de 1,6 à 1,7 mm (Germinal Vesicle BreakDown ou GVBD).

Le même type d'expérience fut réalisé par Tyler et al. (1991) chez la truite arc-en-ciel. De leurs résultats, il apparaît que l'ovocyte doit atteindre la taille critique d'environ 0,6 mm pour être capable de séquestrer la VTG (Figure 10). L'incapacité des ovocytes plus petits à séquestrer de la VTG peut être due à l'absence de récepteurs

à VTG ou à la surface des enveloppes folliculaires entourant l'ovocyte qui interdisent l'accès de la VTG (Wallace, 1985). La quantité de VTG incorporée augmente avec la taille de l'ovocyte jusqu'à ce que celui-ci atteigne un diamètre compris entre 1 et 2,5 mm après quoi l'incorporation atteint un plateau puis diminue brusquement lorsque l'ovocyte approche de l'ovulation (5 mm).

1.2.2.5.5. Les modifications de la composition en protéines vitellines de l'ovocyte

On a longtemps pensé que les protéines vitellines ne subissaient plus de modifications après la formation du vitellus. Cependant, une protéolyse supplémentaire de ces protéines a été observée pendant la maturation des ovocytes de *Fundulus heteroclitus* (Wallace et Selman, 1985).

Une caractéristique de l'ovocyte en maturation chez la plupart des Téléostéens est une hydratation importante de celui-ci, menant à une augmentation importante de son volume (2 à 3 fois chez les espèces marines). Wallace et Selman (1985) ont suggéré que la protéolyse des protéines vitellines peut aider à l'hydratation en contribuant à l'augmentation du potentiel osmotique de l'ovocyte. Greeley et al. (1986) entreprirent de comparer ces modifications au sein de l'ovocyte maturationnel chez différents Téléostéens : des espèces marines à oeufs pélagiques (flottants), des espèces marines et d'eau saumâtre à oeufs démerseaux (sur substrat) et des espèces dulcicoles à oeufs démerseaux. Ils observèrent les modifications les plus importantes chez les espèces marines à oeufs pélagiques. Viennent ensuite les espèces marines et d'eau saumâtre à oeufs démerseaux puis les espèces dulcicoles chez lesquelles ils n'observèrent pas ou de très faibles modifications.

1.3. La maturation finale

Lorsqu'il a terminé sa croissance, l'ovocyte reprend ses divisions réductionnelles qui s'étaient arrêtées jusque là en prophase de la première méiose. L'ovocyte prend une forme aplatie. Au pôle animale apparaît alors une petite dépression dans le follicule et la *zona radiata* : le micropyle. C'est à travers ce micropyle que le spermatozoïde pourra accéder à l'ovocyte. Le micropyle est occupé

par des cellules micropylaires hautement spécialisées jusqu'à ce que l'ovocyte mature soit expulsé du follicule au moment de l'ovulation. La structure spécialisée des cellules micropylaires (entre autres par la présence de nombreux microtubules et de citernes de RER fortement dilatées) suggère que ces cellules fonctionnent, non seulement en tant que simple bouchon du micropyle, mais également comme cellules de sécrétion (Nagahama, 1983).

L'amélioration des techniques d'incubation *in vitro* a permis l'observation des différents stades morphologiques associés à la maturation finale de l'ovocyte (Nagahama, 1983). Ainsi, chez la truite arc-en-ciel, on peut observer une migration de la vésicule germinative en direction du pôle animal où se situe le micropyle. La membrane de la vésicule germinative se déchire et son contenu se disperse dans le cytoplasme avoisinant (GVBD). Parallèlement à ces changements du noyau, plusieurs modifications cytoplasmiques se déroulent également, à savoir la fusion des gouttelettes lipidiques avec les globules de vitellus et une croissance rapide de l'ovocyte suite à une hydratation importante, l'ensemble de ces processus augmentant fortement la transparence de l'ovocyte. La maturation est stimulée par la $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one bien que chez certaines espèces les corticostéroïdes (cortisol, cortisone, 11désocortisol, 11désocorticostérone) semblent jouer ce rôle (Fostier et al., 1983).

1.4. L'ovulation

A la fin de la première division méiotique, les ovocytes sont expulsés dans la cavité ovarienne ou péritonéale, ce processus étant communément appelé "ovulation". Les ovules continuent leur méiose jusqu'en métaphase II, stade où la fécondation devient possible. L'ovulation est, soit dans son ensemble, soit en partie, sous dépendance hormonale; néanmoins elle n'est pas toujours associée à la maturation finale. L'ovulation implique la séparation de la membrane folliculaire et de l'ovocyte. Il a été suggéré à plusieurs reprises que des enzymes protéolytiques seraient impliquées dans cette rupture des connections folliculo-ovocytaires, sans que ce processus soit toutefois élucidé. Les prostaglandines de type $F2\alpha$ sont capables d'induire l'ovulation *in vitro* d'ovocytes préalablement traités *in vivo* par injection d'HCG (Human Chorionic

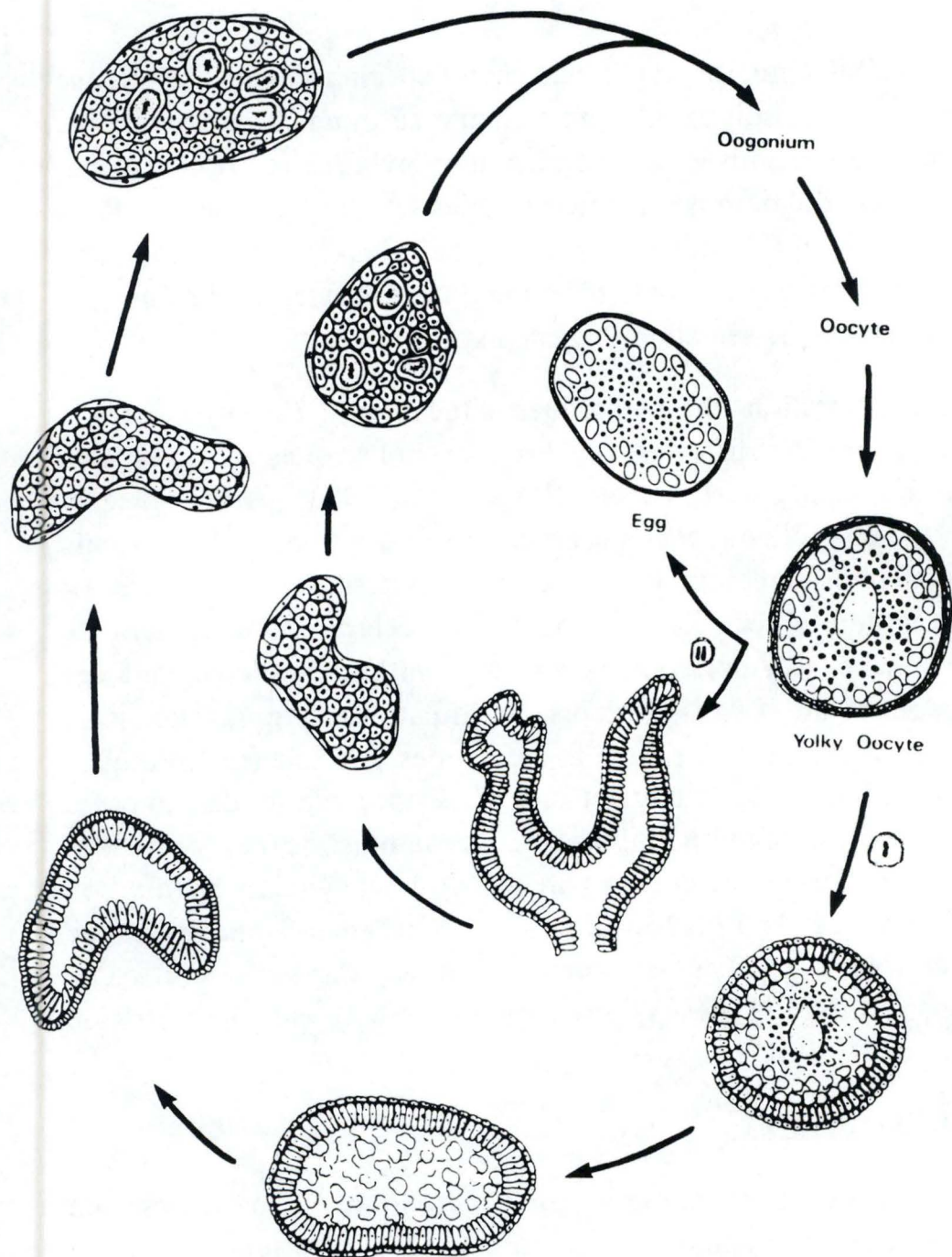


Figure 11 : Devenir des follicules pré- (I) et postovulatoires (II) dans les ovaires du poisson rouge, *Carassius auratus*. D'après Khoo, 1975.

Gonadotropin). A ce même moment, la membrane folliculaire se contracte. Certains éléments contractiles tels que des microfilaments sont présents dans des cellules thécales lors de l'ovulation (Kagawa et Nagahama, 1983).

1.5. Les follicules atrétiques

Ce sont des structures très fréquentes dans les ovaires de Téléostéens. On distingue généralement 2 types de follicules atrétiques : ceux qui apparaissent avant l'ovulation de l'ovocyte (*corpora atretica preovulationis*) et ceux qui sont constitués des enveloppes folliculaires après l'ovulation (*corpora atretica postovulationis* ou *corpora lutea*) (Figure 11).

Les follicules atrétiques préovulatoires peuvent apparaître à tout moment au cours du développement de l'ovocyte et sont généralement causés par un stress environnemental. Les ovocytes protoplasmiques ne sont toutefois que rarement concernés par ces phénomènes de résorption *in ovario*, ce qui peut s'expliquer d'une part, par la présence d'enveloppes folliculaires encore peu différenciées, et par le fait que ce stade de développement ovocytaire n'est pas dépendant de stimulations hormonales gonadotropes, comme c'est le cas pour les stades ultérieurs. L'atrésie débute généralement par une prolifération et une hypertrophie des cellules de la *granulosa*. La limite des cellules folliculaires devient irrégulière. La *zona radiata* perd son aspect strié et prend une conformation désordonnée. Parallèlement à la désorganisation des enveloppes folliculaires, le cytoplasme de l'ovocyte subit une autolyse générale. En fin d'atrésie, il ne subsiste plus qu'un amas de cellules granulaires qui seront progressivement résorbées et se confondront avec le stroma ovarien (Khoo, 1975).

Les follicules postovulatoires sont des structures présentes dans l'ovaire après l'ovulation et dont la nature endocrine est souvent controversée, à l'inverse des *corpora lutea* présents chez les mammifères dont l'action stéroïdogénique est parfaitement reconnue. Deux types principaux de *corpus luteum* s'observent chez les poissons. Dans le premier type, seules les cellules de la *granulosa* s'hypertrophient et se transforment en cellules lutéales alors que dans le second type, les cellules thécales et granulaires s'hypertrophient.

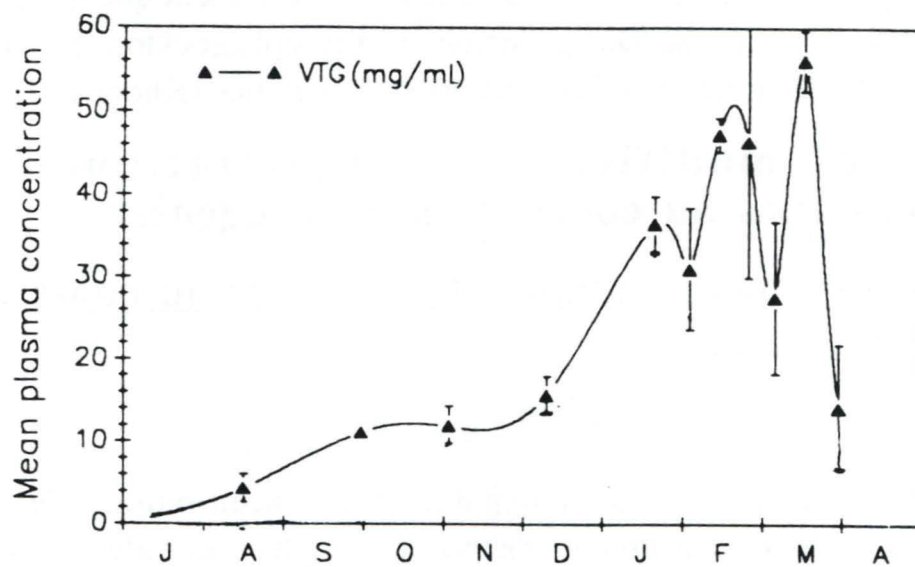


Figure 14 : Variations saisonnières des concentrations en vitellogénine chez le flétan, *Hippoglossus hippoglossus*. ▲ = moyenne \pm erreur standard. Modifié d'après Methven et al., 1992.

Gonadotropin). A ce même moment, la membrane folliculaire se contracte. Certains éléments contractiles tels que des microfilaments sont présents dans des cellules thécales lors de l'ovulation (Kagawa et Nagahama, 1983).

1.5. Les follicules atrétiques

Ce sont des structures très fréquentes dans les ovaires de Téléostéens. On distingue généralement 2 types de follicules atrétiques : ceux qui apparaissent avant l'ovulation de l'ovocyte (*corpora atretica preovulationis*) et ceux qui sont constitués des enveloppes folliculaires après l'ovulation (*corpora atretica postovulationis* ou *corpora lutea*) (Figure 11).

Les follicules atrétiques préovulatoires peuvent apparaître à tout moment au cours du développement de l'ovocyte et sont généralement causés par un stress environnemental. Les ovocytes protoplasmiques ne sont toutefois que rarement concernés par ces phénomènes de résorption *in ovario*, ce qui peut s'expliquer d'une part, par la présence d'enveloppes folliculaires encore peu différenciées, et par le fait que ce stade de développement ovocytaire n'est pas dépendant de stimulations hormonales gonadotropes, comme c'est le cas pour les stades ultérieurs. L'atrésie débute généralement par une prolifération et une hypertrophie des cellules de la *granulosa*. La limite des cellules folliculaires devient irrégulière. La *zona radiata* perd son aspect strié et prend une conformation désordonnée. Parallèlement à la désorganisation des enveloppes folliculaires, le cytoplasme de l'ovocyte subit une autolyse générale. En fin d'atrésie, il ne subsiste plus qu'un amas de cellules granulaires qui seront progressivement résorbées et se confondront avec le stroma ovarien (Khoo, 1975).

Les follicules postovulatoires sont des structures présentes dans l'ovaire après l'ovulation et dont la nature endocrine est souvent controversée, à l'inverse des *corpora lutea* présents chez les mammifères dont l'action stéroïdogénique est parfaitement reconnue. Deux types principaux de *corpus luteum* s'observent chez les poissons. Dans le premier type, seules les cellules de la *granulosa* s'hypertrophient et se transforment en cellules lutéales alors que dans le second type, les cellules thécales et granulaires s'hypertrophient.

Tableau 1 : Concentrations en vitellogénine obtenue chez différentes espèces.

Espèces	Concentration ng/ml	Techniques de dosage	Sources
<i>Esox lucius</i>	de 1 à 48	immunoélectrophorèse quantitative	Goedmakers et Verboom, 1974
<i>Gadus morhua</i>	jusqu'à 32	immunodiffusion semi-quantitative	Plack et al., 1971
<i>Salmo trutta</i>	de 5 à 80	radioimmunoassay	Crim et Idler, 1978
<i>Salmo salar</i>	de 0,05 à 6	radioimmunoassay	Idler et al., 1979
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	jusqu'à 9	dosage des protéines	Chung-Wai Ho et Vanstone, 1961
<i>Carassius auratus</i>	jusqu'à 32	dosage des protéines	Hori et al., 1979

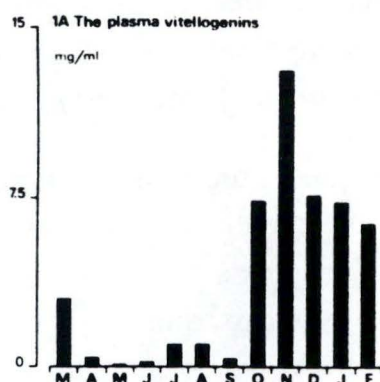


Figure 12 : Variations saisonnières des concentrations en vitellogénine chez la Truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*. D'après Van Bohemen et al., 1981.

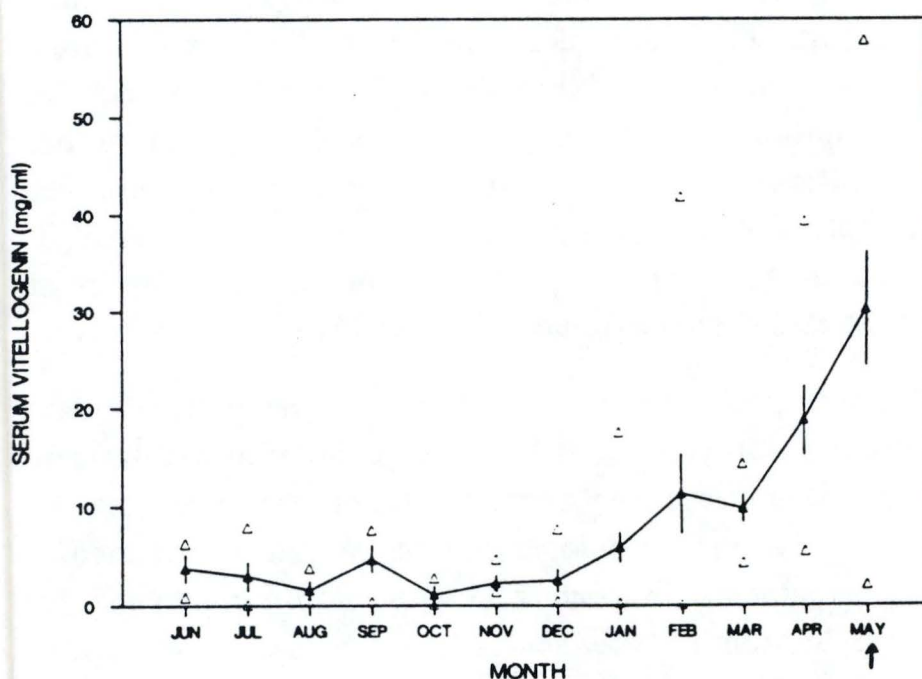


Figure 13 : Variations saisonnières des concentrations en vitellogénine chez le poisson-chat *Ictalurus punctatus*. ▲ = moyenne ± erreur standard, Δ = valeurs minimales et maximales. D'après Pacoli et al., 1990.

Chez les Téléostéens, des cellules thécales spéciales, dont la structure et l'ultrastructure se rapprochent des cellules typiquement stéroïdogéniques, s'organisent en petits amas à proximité des capillaires sanguins. La durée de la phase fonctionnelle des cellules lutéales est généralement courte chez les Téléostéens, s'étalant sur quelques jours chez les Salmonidés et sur seulement quelques heures chez les Cyprinidés. Des phénomènes d'autophagocytose provoquent une régression des cellules thécales et granulaires (Khoo, 1975).

2. Les modifications plasmatiques et hépatiques au cours de la vitellogenèse

2.1. Les modifications plasmatiques au cours de la vitellogenèse

2.1.1. La vitellogénine

Il est difficile de comparer des concentrations de VTG déterminées par différentes méthodes. De plus, les valeurs obtenues dans différents travaux montrent des variations importantes pouvant être dues à la variation spécifique. Le tableau 1 reprend des valeurs de concentrations en vitellogénine plasmatique pour différentes espèces. Cependant, les caractéristiques des fluctuations de la VTG à différents moments du cycle reproducteur peuvent être comparées.

Chez les poissons qui ne pondent qu'une seule fois l'an, deux types de variations saisonnières des concentrations plasmatiques en VTG ont été observées :

- dans le premier cas, la VTG atteint son niveau maximal ± 1 mois avant la ponte ou avant que les ovaires n'atteignent leur taille maximale (Pacoli et al., 1990). Il s'agit par exemple du saumon Atlantique, *S. salar* (So et al., 1985), de la truite arc-en-ciel, *O. mykiss* (Van Bohemen et al., 1981) (Figure 12).
- dans le second cas, les concentrations en VTG plasmatique sont caractérisées par une augmentation graduelle avec un pic quelques jours avant la ponte, comme chez le poisson-chat *Ictalurus punctatus* (Pacoli et al., 1990), le flet *Platichthys flesus* (Petersen et Emmersen, 1977), la truite de rivière *Salmo trutta* (Crim et Idler, 1978) et le saumon de fontaine *Salvelinus fontinalis* (Tam et al., 1986) (Figure 13).

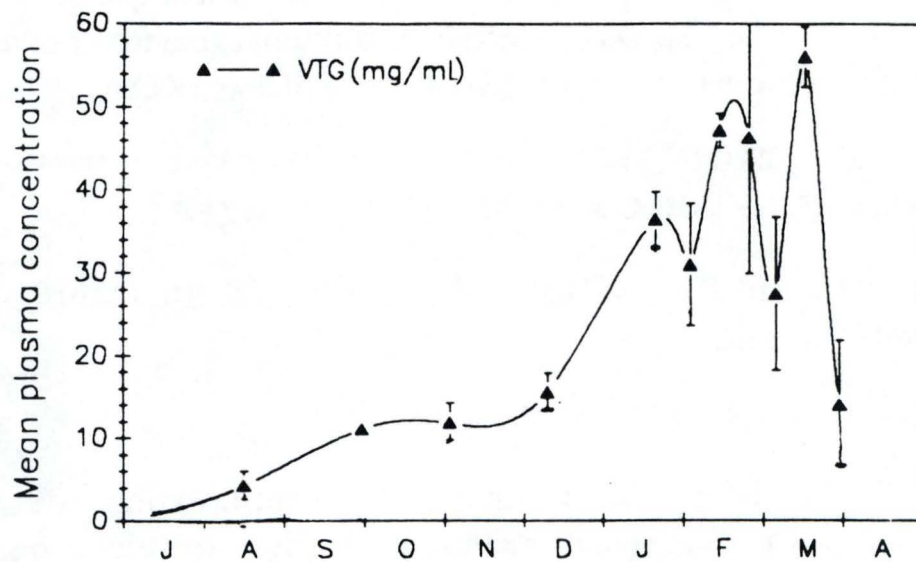


Figure 14 : Variations saisonnières des concentrations en vitellogénine chez le flétan, *Hippoglossus hippoglossus*. ▲ = moyenne \pm erreur standard. Modifié d'après Methven et al., 1992.

Dans les deux cas, on assiste après la ponte à une diminution des concentrations de VTG vers des valeurs très basses. Cette diminution peut être progressive comme chez la truite arc-en-ciel (de 12,9 mg/ml en novembre à 0,1 mg/ml en mai; Van Bohemen et al., 1981) ou beaucoup plus brusque comme chez *Ictalurus punctatus* (de 30,2 mg/ml en mai avant la ponte à 3,8 mg/ml en juin après la ponte, Pacoli et al., 1990). Il est néanmoins étonnant de constater une différence de profil des variations des concentrations en VTG pour des espèces aussi proches que *Salmo salar* et *S. trutta*. En regardant le tableau 1, on constate cependant que les concentrations maximales en VTG sont de 6 mg/ml pour *S. salar* contre 80 mg/ml pour *S. trutta*..

Chez les poissons pendant plusieurs fois durant leur période de reproduction, l'augmentation des concentrations plasmatiques en VTG avant la ponte est progressive. Suite à la première ponte, Methven et al. (1992), constatèrent une chute des concentrations en VTG chez le flétan *Hippoglossus hippoglossus* de 47,6 mg/ml à 30 mg/ml suivi d'une nouvelle augmentation jusqu'à 56 mg/ml pour terminer par une chute à 1,6 mg/ml après la période de ponte (Figure 14). Ils suggèrent que ce type de variations est à relier au cycle de développement des différents groupes d'ovocytes comme cela a été montré chez le poisson rouge (Kagawa et al., 1983 et Kobayashi et al., 1988), le poisson-chat *Ictalurus nebulosus* (Burke et al., 1984) et le fondule *Fundulus grandis* (Greeley et al., 1988). L'augmentation du niveau des pics de VTG peut être expliquée par le fait que plus on avance dans la saison de ponte, moins il y a d'ovocytes vitellogéniques, ce qui diminue le taux de séquestration de VTG par les ovocytes et entraîne l'augmentation des concentrations plasmatiques.

La diminution des concentrations en VTG après la ponte peut s'expliquer en partie par un arrêt de sa synthèse au niveau du foie, mais il est probable que d'autres processus interviennent comme la protéolyse de la VTG, sa redistribution tissulaire et sa transformation. Nous n'avons malheureusement pas trouvé d'informations à ce sujet. Néanmoins, Le Menn (1979) note la persistance de protéines vitellines dans le plasma après la ponte chez le gobie noir *Gobius niger* L.

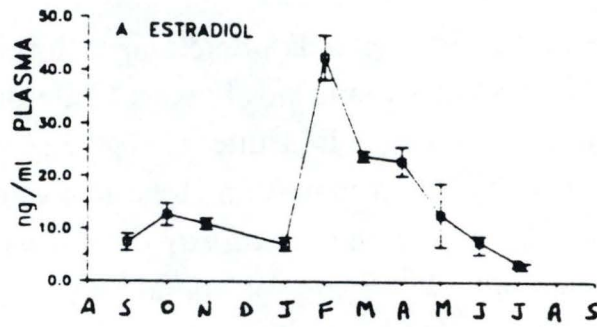


Figure 15 : Variations saisonnières des concentrations en 17β -oestradiol chez le poisson-chat *Ictalurus punctatus*. Les lignes continues représentent des poissons avant la période de ponte, les lignes discontinues des poissons en postponte. \square = moyenne \pm erreur standard. D'après Mac Kenzie et al., 1989.

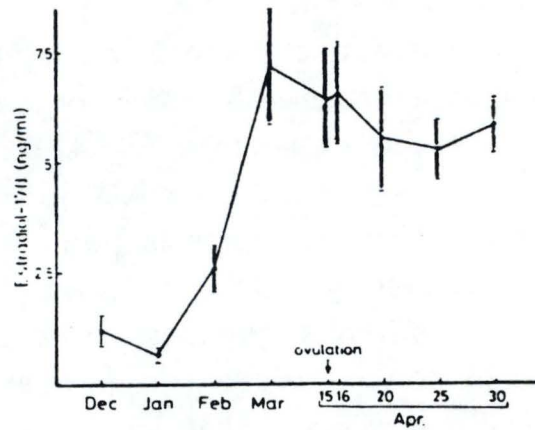


Figure 16 : Variations saisonnières des concentrations en 17β -oestradiol chez le poisson rouge, *Carassius auratus*. Moyenne \pm erreur standard. D'après Kagawa et al., 1983.

2.1.2. La 17 β -oestradiol

Les niveaux de 17 β -oestradiol (E2) rapportés pour différentes espèces, montrent une large gamme avec des valeurs maximales de moins de 1 ng/ml chez le poisson-montre Atlantique *Hoplostethus atlanticus*, *Parapercis colias* et le tassergal, *Pomatomus saltator* (Mac Gregor et al., 1981; Pankhurst et Conroy, 1987 et 1988) à plus de 50 ng/ml chez certains Salmonidés tels que le saumon de fontaine *S. fontinalis* et la truite arc-en-ciel *O. mykiss* (Scott et al., 1984; Tam et al., 1986).

Encore une fois, comme pour la VTG, le mode de variation des concentrations en E2 dans le plasma dépend de la stratégie de ponte de l'espèce :

- chez les poissons à ponte unique, ces valeurs augmentent progressivement au cours de la vitellogenèse exogène pour atteindre leur niveau le plus élevé juste avant la maturation finale (Figure 15), moment où elles enregistrent une chute. Ce phénomène met fin au feed-back négatif qu'exerce l'E2 sur la libération de l'hormone gonadotrope maturationnelle (GtH₂) permettant ainsi la maturation finale et l'ovulation des ovocytes (Wingfield et Grimm, 1977; Breton et al., 1983; Scott et al., 1984; Zohar et al., 1986; Mac Kenzie et al., 1989; Singh et Singh, 1990; Berlinsky et Specker, 1991).

- chez les espèces à pontes multiples, les valeurs atteignent leur niveau le plus haut juste avant la période de ponte et demeurent élevées pendant toute sa durée (Figure 16). Ces valeurs sont expliquées par la présence au sein de l'ovaire d'ovocytes vitellogéniques produisant encore de l'E2 (Kagawa et al., 1983; Stacey et al., 1983; Methven et al., 1992; Rinchard et al., 1993). Contrairement aux espèces à ponte unique, il semble que chez les espèces à pontes multiples, la chute d'E2 n'est pas un prérequis pour la maturation et l'ovulation stimulées par l'augmentation de GtH (Stacey et al., 1983).

Bien que la synthèse de la VTG soit contrôlée par l'E2, la corrélation entre les concentrations de VTG et d'E2 n'est pas toujours positive. Ainsi chez le chabot *Leptocottus armatus* (De

Tableau 2 : Concentrations en phosphore protéique obtenue chez différentes espèces.

Espèces	Concentration $\mu\text{mol/ml}$	Sources
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0,3 à 6,1	Van Bohemen et al., 1981
<i>Platichthys flesus</i>	0,1 à 1,3	Emmersen et Petersen, 1976
<i>Oncorhynchus nerka</i>	0,6	Chung-Wai Ho et Vanstone, 1961
<i>Carassius auratus</i>	10	Hori et al., 1979

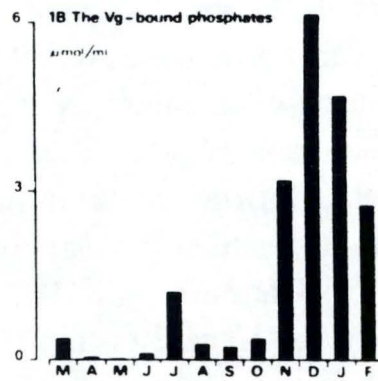


Figure 17 : Variations saisonnières des concentrations en phosphore protéique chez la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss*. D'après Van Bohemen et al., 1981.

Vlaming et al., 1984), la plie *Pleuronectes platessa* (Wingfield et Grimm, 1977) et la truite arc-en-ciel *O. mykiss* (Whitehead et al., 1983), on observe de faibles concentrations d'E2 alors que les teneurs en VTG sont élevées. Dans les deux premiers cas, ces observations peuvent s'expliquer par une diminution du taux d'incorporation de la VTG. Au contraire, dans le troisième cas, l'incorporation se poursuit indiquant que des niveaux élevés d'E2 ne sont pas toujours nécessaires pour la synthèse de VTG.

2.1.3. Le phosphore protéique

Sachant que la VTG est la seule phosphoprotéine du plasma des femelles ovipares matures, il est possible d'estimer sa concentration en mesurant celle du phosphore protéique (Emmersen et Petersen, 1976; Whitehead et al., 1983). Les valeurs en phosphore protéique sont très variables selon les espèces, allant de 0,1 $\mu\text{mol/ml}$ à 10 $\mu\text{mol/ml}$ (0,1 $\mu\text{mol/ml}$ correspond à environ 3-4 ng/ml) (Tableau 2). Cette variabilité peut être expliquée par des concentrations différentes en VTG selon l'espèce (variabilité interspécifique) mais aussi par des contenus différents en phosphore lié à la VTG. En effet, il existe différents degrés de phosphorylation de la VTG et cela même au sein d'un même individu. Ainsi Mano et Lipmann (1966) isolèrent 4 sortes de phosvitine chez la truite arc-en-ciel différenciables par leur contenu en phosphore. Il semble en outre que plus on avance dans la vitellogenèse exogène, plus le degré de phosphorylation de la VTG augmente (Van Bohemen et al., 1981). Il faut également tenir compte de la variabilité liée à la méthode de dosage.

D'une façon générale, la plupart des résultats obtenus sur l'évolution du taux de phosphore protéique au cours du cycle annuel d'animaux ovipares permettent de dégager que ces taux augmentent une fois la vitellogenèse commencée et atteignent leur maximum juste avant l'ovulation (Emmersen et al., 1979; Whitehead et al., 1980; Van Bohemen et al., 1981; Whitehead et al., 1983; Copeland et al., 1986) (Figure 17).

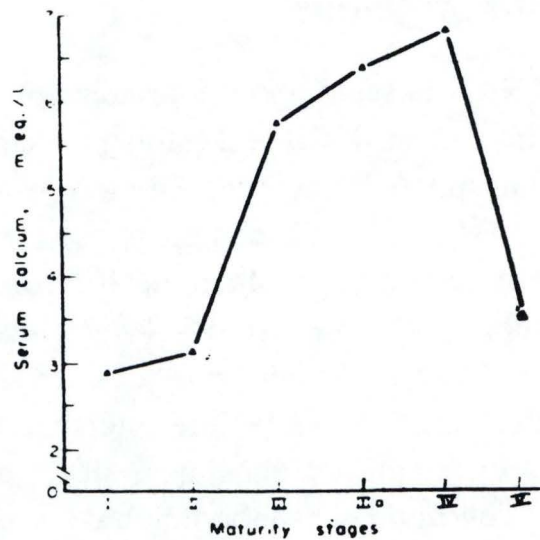


Figure 18 : Variations saisonnières des concentrations en calcium chez le colin *Merluccius gayi gayi*. I = ovaires immatures, II = début de l'activité des gonades, III = maturation, IV = ovulation, V = atresie, IIIa = ovaires au stade IV qui recommence une maturation (stade III). Modifié d'après Balbontin et al., 1978.

2.1.4. Le calcium

Wallace (1970) suggère que le calcium pourrait servir d'indicateur des taux de VTG dans le plasma. Hjartarson et al. (1991) montrèrent que des loups de mer, *Anarhichas lupus*, traités à l'E2 subissaient une augmentation du Ca⁺⁺ plasmatique (156%). Carragher et Sumpter (1991) arrivent aux mêmes conclusions pour la truite arc-en-ciel montrant par ailleurs que le réservoir de Ca⁺⁺ n'était pas les os mais les écailles.

Balbontin et al. (1978) suivirent l'évolution de la concentration en calcium chez le colin, *Merluccius gayi gayi*, un pondeur multiple. Il apparut que le Ca⁺⁺ montrait des variations en relation avec la maturité sexuelle. L'augmentation des concentrations en Ca⁺⁺ débutait avec le développement des gonades passant de ± 3 méq/l à 6 méq/l au moment de la maturation des premiers ovocytes. Au cours de la période de ponte, la concentration en calcium augmente jusqu'à 7 méq/l puis chute à 3,5 méq/l en postponte (Figure 18).

2.1.5. Les lipides

Singh et Singh (1990) ont réalisé chez le poisson-chat indien *Heteropneustes fossilis* une étude sur les modifications saisonnières du métabolisme des lipides au niveau du plasma. Au cours de la phase de repos, les niveaux élevés d'ester de cholestérol (CE) suggèrent son transport pour son dépôt dans les tissus périphériques. Pendant la vitellogenèse, les monoglycérides (MG), les diglycérides (DG) et les triglycérides (TG) ont des niveaux constants. En outre, les MG et DG sont en concentrations élevées. Des teneurs élevées de phospholipides (PL) sont également enregistrées à ce moment. Durant la phase précédant la ponte, des valeurs élevées de TG et de PL indiquent leur transfert rapide vers l'ovaire. L'augmentation des concentrations de cholestérol libre (CF) est un signe de son transfert accru vers l'ovaire où il est utilisé pour la stéroïdogénèse. Lors de la ponte, les acides gras libres (FFA) voient leur concentration augmenter (lipolyse des TG) ce qui en fait des intermédiaires possibles en tant que source immédiate d'énergie. La diminution du CF indique un ralentissement de son transport pour son utilisation dans la stéroïdogénèse. Après la ponte, les FFA diminuent de même que les TG et les PL suite à une diminution de leur libération par le

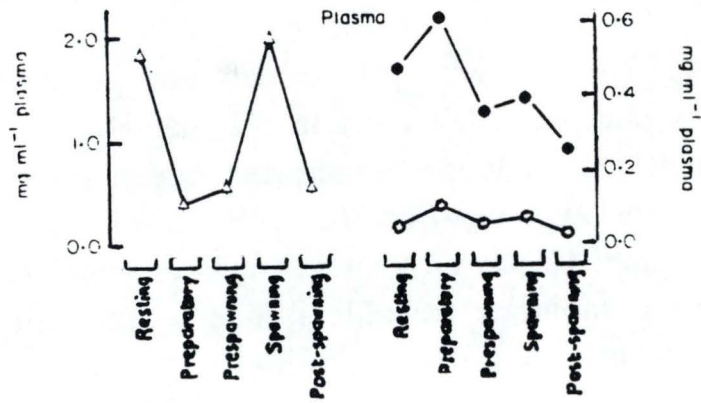


Figure 19 : Modifications plasmatiques des concentrations en acides gras libres = Δ , en monoglycérides = o et en diglycérides = ● chez le poisson-chat indien, *Heteropneustes fossilis* au cours d'un cycle sexuel. D'après Singh et Singh, 1990.

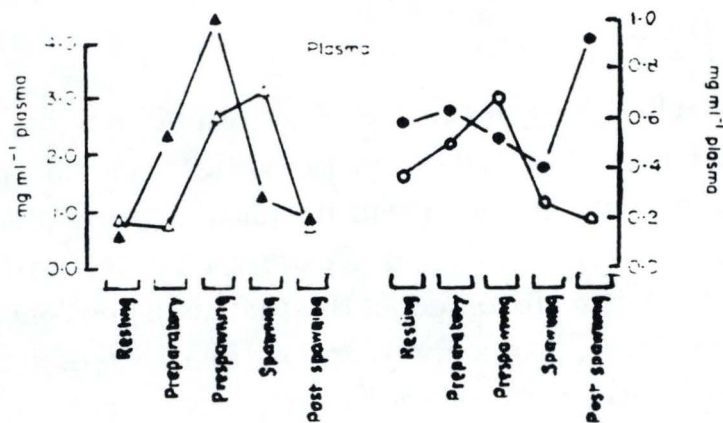


Figure 20 : Modifications plasmatiques des concentrations en triglycérides = Δ , en phospholipides = \blacktriangle , en cholestérol libre = o et en ester de cholestérol = ● chez le poisson-chat indien, *Heteropneustes fossilis* au cours d'un cycle sexuel. D'après Singh et Singh, 1990.

foie. La stimulation de l'estérification du CF en CE et la libération rapide de ce dernier dans le sang sont à l'origine des concentrations élevées d'ester de cholestérol (Figures 19 et 20).

Travaillant sur le flet, *P. flesus*, Petersen et Emmersen (1977) montrèrent que les concentrations en PL dans le plasma des femelles sont corrélées aux concentrations en VTG. Mieux encore, ces concentrations varient d'une manière très similaire à la VTG et peuvent donc être reliées à la vitellogenèse. Il faut savoir que ces PL sont nécessaires pour la constitution de la membrane des ovocytes ainsi que pour la formation du vitellus (Follet et Redshaw, 1974). Ces observations concordent avec celles réalisées chez la truite de rivière pour laquelle les concentrations en PL plasmatiques sont élevées pendant la période de croissance ovarienne et diminuent après la ponte (Love, 1970).

Nassour et Léger (1989) ont montré chez la truite arc-en-ciel que l'incorporation des acides gras dans l'ovaire sous forme phospholipidique est privilégiée aux stades terminaux de la croissance ovarienne, ce qui concorde avec les concentrations croissantes de PL dans le plasma lors de la vitellogenèse exogène.

2.1.6. Le glucose

Petersen et Emmersen (1977) travaillant sur le flet observèrent les faits suivants : des concentrations élevées dans le sang avant le début de la vitellogenèse, puis avec le début de celle-ci une diminution des valeurs. Au moment de la ponte, ils assistèrent de nouveau à une augmentation des valeurs qui retombèrent à des valeurs basses après la ponte. Cette chute des valeurs au cours de la vitellogenèse fut aussi observée chez la truite arc-en-ciel par Washburn et al. (1992) et peut s'expliquer par une incorporation accrue de glucose par les ovaires. L'hyperglycémie observée au moment de la ponte du flet est un phénomène connu chez les vertébrés. La diminution des concentrations plasmatiques de glucose pendant la vitellogenèse ne semble cependant pas être une caractéristique commune à tous les poissons puisque Ng et al. (1986) observèrent un doublement des concentrations de glucose au cours de cette période chez le griset *Mylio macrocephalus*.

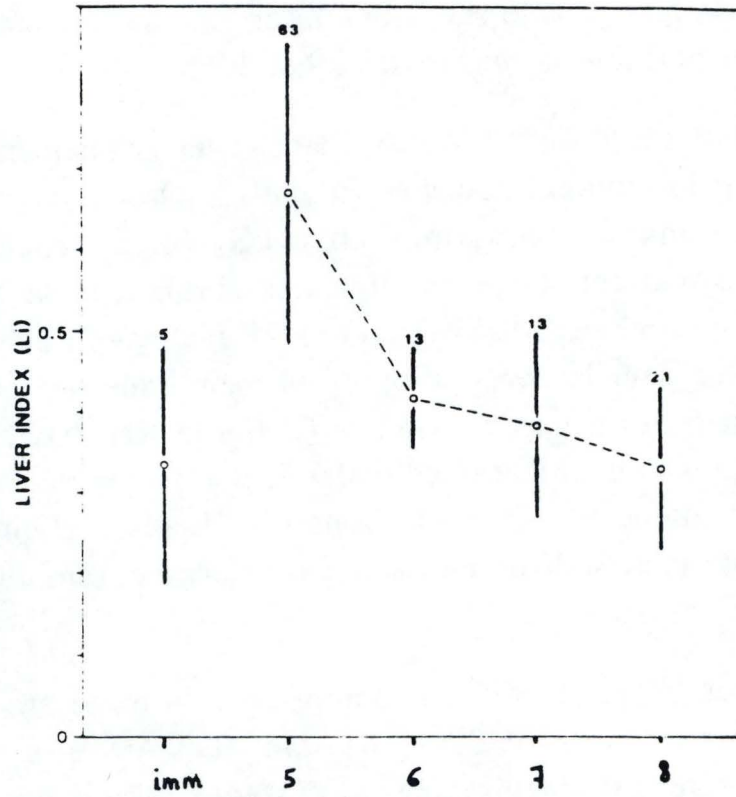


Figure 21 : Modification du rapport hépatosomatique chez le flétan, *Hippoglossus hippoglossus*, en relation avec le stade de maturité. imm = immature, 5 = maturation, 6 = juste avant la ponte, 7 = pendant la ponte, 8 = après la ponte. o = moyenne \pm erreur standard. Les nombres représentent le nombre de poissons examinés. D'après Haug et Gulliksen, 1988.

2.2. Les modifications hépatiques au cours du cycle sexuel

Durant la phase active de la reproduction des ovipares, les hormones mises en jeu induisent des modifications très marquées du métabolisme hépatique. Le métabolisme des acides nucléiques, des protéines et des lipides en particulier est fortement stimulé au cours de la vitellogenèse exogène.

2.2.1. Le rapport hépatosomatique et la contribution du foie au cours du cycle sexuel

Chez la truite arc-en-ciel, Van Bohemen et al. (1981) suggèrent que pendant la vitellogenèse, les valeurs élevées du rapport hépatosomatique (RHS) (rapport entre le poids du foie et le poids total du poisson) sont dues à la synthèse hépatique de la vitellogénine.

Le foie du flétan (*H. hippoglossus*) est une source d'énergie importante pour la préparation à la saison de ponte comme en témoigne la diminution du RHS au cours de la maturation (Haug et Gulliksen, 1988) (Figure 21). Il en va de même pour le poisson rouge où Delahunty et De Vlaming (1980) constatent que le poids du foie diminue au cours de la période où les ovaires subissent leur croissance maximale. Chez la morue, *Gadus morhua*, la croissance des gonades explique environ 1/3 de la diminution du contenu énergétique du foie (Eliassen et Vahl, 1982).

Cependant, il existe des espèces pour lesquelles il n'en va pas de même. Chez la limande, *Limanda limanda*, les valeurs du RHS sont au plus bas seulement après la ponte, ce qui suggère que les réserves n'ont pas été sérieusement entamées au cours de la formation du vitellus (Htun-Han, 1978). Il en va de même pour la plie *P. platessa*, pour laquelle il apparaît que la contribution énergétique du foie est insignifiante (Wingfield et Grimm, 1977; Dawson et Grimm, 1980).

2.2.2. Les protéines

Chez le brochet (*Esox lucius*), les protéines hépatiques voient leur quantité augmenter au cours de l'automne et de l'hiver (vitellogenèse) : la proportion des protéines hépatiques par rapport au poids somatique (poids du corps moins poids des ovaires et du

foie) passe de 0,16% à 0,34%. Juste avant la ponte (mars-avril), ces valeurs chutent à 0,25% pour atteindre 0,12% après la ponte (Medford et Mackay, 1978). Ces variations sont à mettre en relation avec la synthèse de vitellogénine, l'accumulation de ses précurseurs et des enzymes requis pour la vitellogenèse.

Chez la loquette, *Zoarces viviparus*, Korsgaard (1990) a constaté que le foie de femelles traitées à l'oestradiol incorporait des acides aminés en plus grande quantité que chez des individus non traités. Les acides aminés concernés étaient principalement l'alanine et surtout le glutamate dont le rôle dans la synthèse des autres acides aminés est important.

2.2.3. Les carbohydrates

Washburn et al. (1992) ont suggéré que le glucose, chez les poissons, peut constituer une des sources majeures d'énergie pour les gonades. Une chute des teneurs hépatiques en glycogène a été observée chez la truite arc-en-ciel au cours de la vitellogenèse exogène (Barciella et al., 1993). Cette observation avait déjà été réalisée chez différentes espèces : *Platichthys flesus* (Sand et al., 1980), *Ictalurus punctatus* (Pacoli et al., 1991), *Heteropneustes fossilis* (Dasmahapatra et Medda, 1982), *Salmo salar* (Olin et al., 1992), *Salvelinus fontinalis* (Whitting et Wiggs, 1978).

En outre une diminution de l'activité des enzymes impliquées dans la glycolyse et dans la voie des pentoses phosphates a aussi été observée suggérant qu'à la fin de la vitellogenèse, la nécessité de fournir de l'énergie et de la puissance réductrice a diminué par rapport au début de la vitellogenèse exogène (Barciella et al., 1993).

2.2.4. Les lipides

Plusieurs auteurs ont montré l'effet de l'oestradiol sur le métabolisme des lipides (Emmersen et al., 1979; Haux et Norberg, 1985). Chez le poisson-chat indien, *H. fossilis*, Singh et Singh (1990) suivirent les modifications des lipides hépatiques au cours du cycle sexuel. Pendant la phase de repos, ils observèrent l'augmentation des acides gras libres (FFA) et des triglycérides (TG) qui peuvent être corrélées avec des conditions favorables pour la nutrition et la synthèse des TG. Les valeurs élevées des esters de cholestérol (CE)

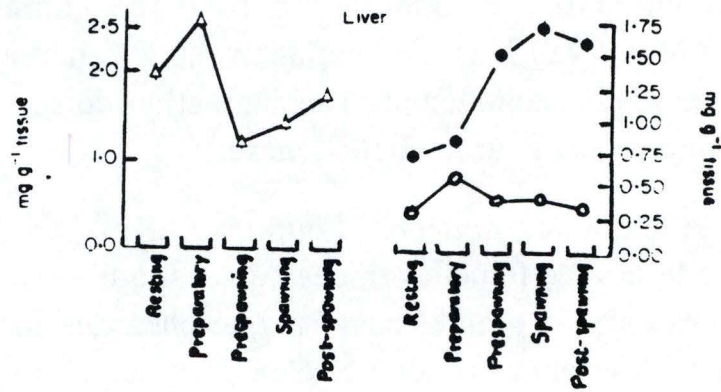


Figure 22 : Modifications hépatiques des concentrations en acides gras libres = Δ , en monoglycérides = o et en diglycérides = ● chez le poisson-chat indien, *Heteropneustes fossilis* au cours d'un cycle sexuel. D'après Singh et Singh, 1990.

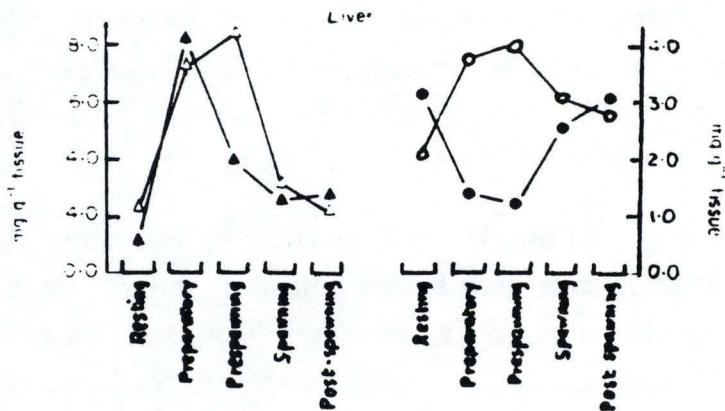


Figure 23 : Modifications hépatiques des concentrations en triglycérides = Δ , en phospholipides = \blacktriangle , en cholestérol libre = o et en ester de cholestérol = ● chez le poisson-chat indien, *Heteropneustes fossilis* au cours d'un cycle sexuel. D'après Singh et Singh, 1990.

suggèrent leur synthèse. Il semble donc que cette phase corresponde à une période de lipogenèse. Au cours de la vitellogenèse, les concentrations élevées de FFA indiquent leur synthèse accrue. Ces acides gras libres seront estérifiés en monoglycérides (MG) et diglycérides (DG) (précurseurs de la vitellogénine) et en triglycérides (TG) (source d'énergie). Les fortes concentrations de phospholipides (PL) pendant cette période prouvent que leur synthèse a augmenté. L'augmentation du cholestérol libre (CF) et la diminution des esters de cholestérol (CE) indiquent l'hydrolyse de ces derniers. Le CF est alors transféré vers les ovaires où il est utilisé pour la stéroïdogenèse. L'activité lipogénique s'accroît donc durant cette période. Lors de la phase précédant la ponte, l'estérification des acides gras libres provoque leur diminution et augmente la quantité de diglycérides et de triglycérides. Le cholestérol libre continue lui à augmenter au dépend des esters de cholestérol. Pendant la ponte, l'ingestion de nourriture est réduite et les demandes énergétiques pour la ponte entraînent une lipolyse des triglycérides. L'estérification du cholestérol libre en esters de cholestérol s'accroît. Après la ponte, la prise de nourriture réaugmente. Les esters de cholestérol s'accroissent encore par estérification du cholestérol libre (Figures 22 et 23).

2.2.5. L'ultrastructure des hépatocytes

L'étude ultrastructurale des hépatocytes montre que leurs variations morphologiques au cours du cycle reproducteur sont en relation avec les variations plasmatiques de VTG (Van Bohemen et al., 1981). Le réticulum endoplasmique rugueux (RER) se développe de façon maximale au cours de la vitellogenèse exogène, quand les concentrations en VTG dans le plasma sont maximales. Après la ponte, quand les concentrations en VTG sont basses, le RER est peu développé et les hépatocytes sont plus petits. L'appareil de Golgi est plus actif au cours de la vitellogenèse exogène. Une dilatation des saccules golgiens et la présence de corps denses furent observées chez le poisson zèbre *Brachydanio rerio* (Peute et al., 1978) ce qui n'est pas le cas chez la truite arc-en-ciel (Van Bohemen et al., 1981). Dans les hépatocytes du poisson rouge, des structures cristallines ont été observées dans les granules de sécrétion mais seulement après injection d'oestradiol (Hori et al., 1979). La disparition des

gouttelettes de glycogène et de lipides au début de la vitellogenèse exogène fut observée chez la femelle du *B. rerio* (Peute et al., 1978), du médaka japonais *Oryzia latipes* (Yamamoto et Egami, 1974) et de l'ayu *Plecoglossus altivelis* (Aida et al., 1973). Ces changements reflètent probablement les demandes métaboliques des hépatocytes durant la période de synthèse intensive de la VTG. A la fin de la vitellogenèse exogène, les mitochondries présentent une structure interne inhabituelle de par la disposition concentrique des membranes suite à une activité intense (Van Bohemen et al., 1981).

3. Les stratégies de ponte chez les poissons Téléostéens et la dynamique de l'ovogenèse

En nous référant à la littérature, nous nous sommes aperçu que les termes utilisés pour la description de la dynamique de l'ovogenèse n'étaient pas toujours bien perçus. Dans ce chapitre nous avons voulu resituer ces différents concepts.

3.1. Les stratégies de ponte

En milieu naturel et indépendamment de la période à laquelle ils se reproduisent, les poissons présentent 3 stratégies de ponte : la ponte unique, la ponte multiple et la ponte continue (Aida, 1991; Mc Evoy et Mc Evoy, 1992). Ces différences de stratégie reproductive peuvent avoir des conséquences sur le recrutement annuel en alevins et donc sur la dynamique de population. Certaines espèces concentrent leurs efforts de reproduction sur une seule ponte, tandis que d'autres répartissent leur potentiel reproductif sur plusieurs pontes et sont dès lors moins soumises aux aléas de l'environnement.

3.1.1. La ponte unique

Les poissons appartenant à ce groupe pondent une fois dans l'année ou une fois dans leur vie. Dans ce dernier cas, on parle d'espèces sémelpares par opposition aux espèces itéropares qui pondent plusieurs fois dans leur vie.

Les Salmonidés sont un exemple de pondeurs uniques. Il en va de même de certains Cyprinidés tels que le gardon (*R. rutilus*), la vandoise (*Leuciscus leuciscus*), le hotu (*Chondrostoma nasus*), la brème commune (*Abramis brama*), le brochet (*Esox lucius*), un

Esocidé, ou encore de Percidés tels la perche (*Perca fluviatilis*) et le sandre (*Stizostedion lucioperca*).

3.1.2. La ponte multiple

Ce groupe comprend des poissons à pontes répétées pendant la saison de reproduction. Dans nos régions, appartiennent entre autre à ce groupe des poissons comme la carpe (*Cyprinus carpio*), le goujon (*Gobio gobio*), la brème bordelière (*Blicca bjoerkna*) et l'ablette (*Alburnus alburnus*).

Dans la littérature, les termes de ponte multiple et de ponte fractionnée sont souvent utilisés comme synonymes. Or le premier terme désigne des vagues d'ovocytes qui ovulent successivement et qui sont pondus au fur et à mesure. Dans le cas de la ponte fractionnée, tous les ovocytes ovulent simultanément et sont émis en petits lots successifs (Wootton, 1992).

3.1.3. La ponte continue

Ce groupe comprend des espèces tropicales et équatoriales qui peuvent présenter une gamétogenèse et une production de jeunes continues au cours de l'année.

3.2. La dynamique du développement ovocytaire

En se basant sur une approche dynamique de l'ovogenèse, trois modèles ont été identifiés par Marza (1938) puis repris par Selman et Wallace (1981) : le développement synchrone, le développement groupe-synchrone et le développement asynchrone.

3.2.1. Le développement synchrone

Tous les ovocytes une fois formés croissent et ovulent tous ensemble. Après cela, plus aucun développement n'a lieu. Ce type de développement a lieu chez les espèces sémelpares comme les Salmonidés du genre *Oncorhynchus* (excepté *Oncorhynchus mykiss*) et chez l'anguille (*Anguilla anguilla*).

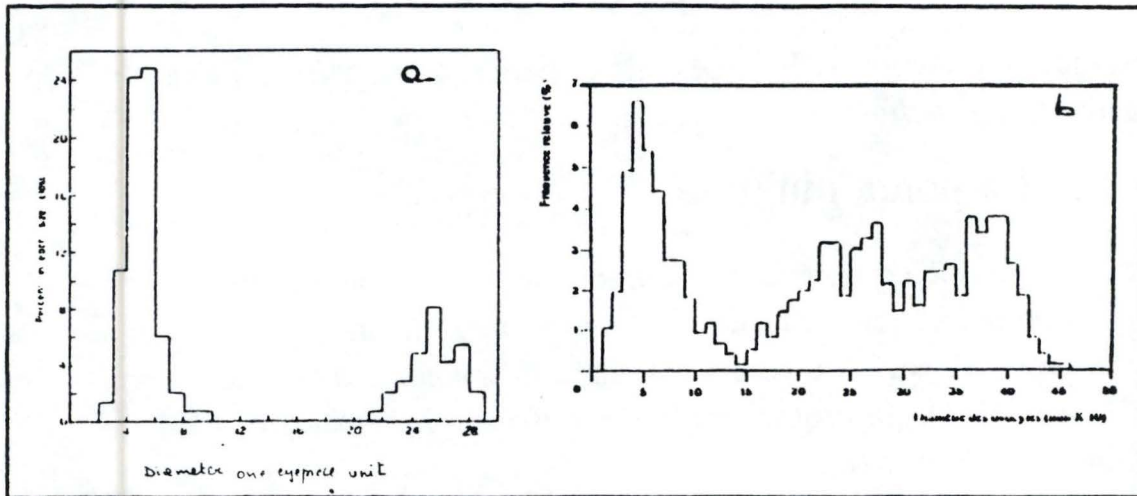


Figure 24 : Structure ovarienne groupe-synchrone chez le gardon (*Rutilus rutilus*) (a) et le barbeau (*Barbus barbus*) (b). D'après MacKay et Mann, 1969 (a) et Kestemont et Philippart, 1991 (b).

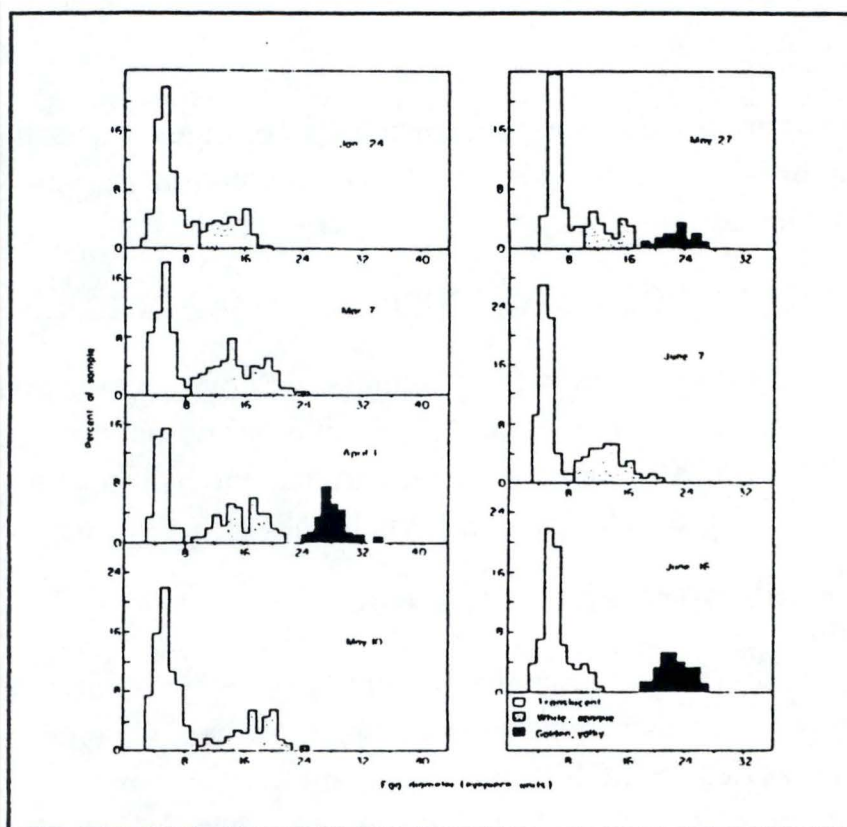


Figure 25 : Structure ovarienne de l'ablette (*Alburnus alburnus*) à différents moments de son cycle reproducteur. D'après MacKay et Mann, 1969.

3.2.2. Le développement groupe-synchrone

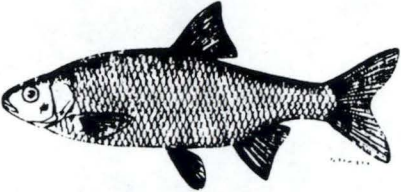
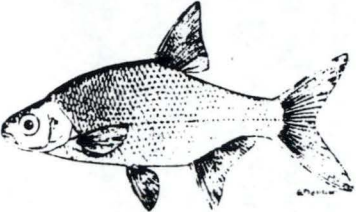
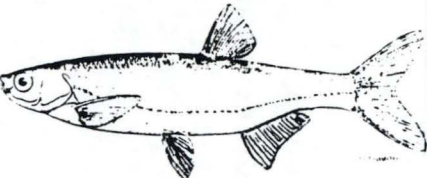
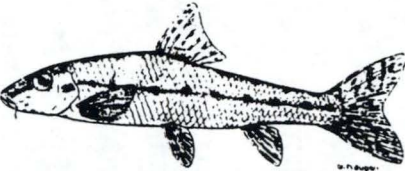
Dans le modèle le plus communément rencontré, trois classes d'ovocytes sont généralement présentes durant la saison de reproduction : une classe dominante et hétérogène constituée d'ovocytes protoplasmiques, une classe en vitellogenèse endogène et une troisième en vitellogenèse exogène ou en maturation finale (Figure 24).

Les espèces avec un développement ovocytaire groupe-synchrone peuvent pondre une ou plusieurs fois durant la saison de reproduction ou de manière continue. Il s'agit du développement ovocytaire le plus commun chez les Téléostéens.

3.2.3. Le développement asynchrone

Dans les ovaires asynchrones, tous les stades ovocytaires sont présents sans prédominance d'une classe particulière (Figure 25). Le recrutement d'ovocytes pour la vitellogenèse est continu tandis qu'il est périodique pour la maturation finale et l'ovulation. La plupart des espèces avec un tel développement ovocytaire ont une période de reproduction prolongée avec des pontes multiples. Il faut néanmoins souligner que la reproduction prolongée n'est pas toujours la conséquence d'une ponte multiple mais l'effet d'un manque de synchronisme dans la population.

Tableau 3 : Principales caractéristiques de la reproduction des espèces cibles.
 D'après (1) Philippart et Vranken (1982), (2) Spillman (1961), (3) Kestemont (1988), (4) Muus et Dahlström (1991).

ESPECES CARACTERISTIQUES	GARDON <i>Rutilus rutilus</i>	BREME BORDELIERE <i>Blicca bjoerkna</i>	ABLETTE <i>Alburnus alburnus</i>	GOUJON <i>Gobio gobio</i>
				
PONTE	UNIQUE	MULTIPLE		
OVOGENESE	GROUPE-SYNCHRONE	ASYNCHRONE		
PERIODE DE REPRODUCTION	AVRIL à JUIN (1)	JUIN à JUILLET (1)	AVRIL à JUIN (1)	MAI à JUIN (1)
T° REPRODUCTION	12 à 15°C (1)	16°C (2)	15°C (1)	16 à 17°C (3)
MATURITE SEXUELLE	2 à 3 ans	2 à 4 ans	2 à 3 ans	à partir d'1 ans
DIAMETRE DES OEUFS	1 à 1,5 mm (4)	1 à 1,5 mm (4)	1,5 mm (4)	1,5 mm (2)
NATURE DU SUBSTRAT DE PONTE	ubiquiste (2)	végétation submergée (2)	gravier et végétation immergée (2)	sable (3)

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

1. Les espèces cibles

Les espèces étudiées au cours de ce travail sont au nombre de 4 et font partie du super-ordre des Téléostéens et de la famille des Cyprinidés. Il s'agit :

- du gardon (*Rutilus rutilus*);
- de la brème bordelière (*Blicca bjoerkna*);
- de l'ablette (*Alburnus alburnus*);
- du goujon (*Gobio gobio*).

Puisque ces différentes espèces présentent des similitudes quant aux caractéristiques générales de leur reproduction (Tableau 3), il nous a été possible de comparer leur vitellogenèse en tenant compte uniquement de la différence de leur stratégie de ponte. En effet, le gardon est un pondeur unique contrairement aux trois autres espèces qui sont des pondeurs multiples.

2. Sites, dates et méthodes de capture

Tous les poissons ont été prélevés en milieu naturel, à savoir en Meuse ou en rivière (principalement l'Ourthe).

Les goujons furent capturés par pêche électrique (Planche 1). Le principe de cette technique est basé sur une propriété particulière du courant électrique qui peut pénétrer dans l'organisme à travers la peau et exciter les cellules nerveuses sensibles ou motrices. Son application est simple : il suffit de créer un champ électrique dans le milieu à prospector. Ce champ électrique est limité d'un côté par une anode (disque grillagé de 40 cm de diamètre muni d'un manche isolé) et de l'autre par une cathode (grille flottante). Ces deux électrodes sont reliées à un groupe électrogène de marque DEKA de 3 kilowatts de puissance. Ce groupe génère un courant alternatif de 300 volts et d'une intensité de 2 à 4 ampères. Pendant qu'une personne manie l'anode, une autre capture les poissons à l'épuisette. Les réactions et mécanismes physiologiques des poissons lors de la pêche électrique ont été décrits par Micha et Ruwet (1970).



Planche 1 : Méthodes de capture des poissons

1. Pêche électrique
2. Echelle à poissons de la Plante avant d'interrompre l'arrivée d'eau
2. Echelle à poissons de la Plante après avoir interrompu l'arrivée d'eau

Les gardons et les brèmes bordelières ont été capturés principalement au filet maillant dont les mailles mesuraient 30 mm entre noeuds. Ce filet d'une longueur de 50 mètres et d'une hauteur de 1,5 mètres est lesté et posé pendant 15 à 20 minutes perpendiculairement au courant. Le filet est ensuite relevé et les poissons sont récupérés à la main.

Les ablettes ont été prélevées à l'échelle à poissons de La Plante, de même que quelques brèmes bordelières et gardons. L'échelle se présente comme un couloir en béton ayant une pente légère et interrompu tous les deux mètres par de petits murets transversaux délimitant ainsi plusieurs petits bassins. Ces bassins communiquent entre eux grâce au fait que les murets transversaux sont moins longs que la largeur du couloir. Les ouvertures sont disposées alternativement à gauche et à droite ce qui rend l'écoulement d'eau sinueux et génère des remous attirant les poissons et les incitant à emprunter l'échelle (Planche 1).

Afin de contrôler le passage entre la Meuse et la noue de Tailfer (bras mort), une nasse a été placée à la sortie du tuyau de communication avec la Meuse, dans le sens Meuse-noue. C'est là que quelques poissons (gardons et ablettes) ont également été capturés. Le poisson qui s'engage dans le tuyau de communication se trouve face à un cône qu'il est obligé de franchir s'il veut pénétrer dans la noue. Il est alors piégé et ne peut retrouver la sortie. La nasse a été construite sur les mesures du tuyau de communication à l'aide de barres métalliques pour constituer l'armature, de treillis pour les côtés et de filet pour former un cône d'entrée plus souple et plus attrayant pour les poissons. Une porte à l'arrière permet de libérer le poisson lors des relevés.

Une fois capturés, tous les individus sont placés directement dans une cuve, alimentée par une bonbonne d'oxygène. Le transport, qui s'effectue en camionnette jusqu'au laboratoire, ne pose généralement pas de problème.

Les campagnes de prélèvement ont débuté le 7 mars 1994 pour prendre fin le 19 octobre 1994. Lors de chacune d'elles, nous nous sommes efforcés de capturer 5 individus femelles des espèces étudiées. Ce quota ne fut malheureusement pas toujours atteint

Tableau 4 : Dates d'échantillonnages, méthodes et sites de capture ainsi que le nombre de poissons capturés. (*) poissons qui ont servi pour la microscopie électronique des foies.

Date	Méthode de capture	Cours d'eau	Lieu de capture	Gardon	Ablette	Brème bord.	Goujon
7/03/94	Nasse	Meuse	Tailfer	5	5		
23/03/94	Nasse	Meuse	Tailfer	5			
28/03/94	Filet	Meuse	Hastière	5		4	
29/03/94	Nasse	Meuse	Tailfer		5		
19/04/94	Filet	Meuse	Houx	5			
22/04/94	Echelle	Meuse	La Plante		5		
25/04/94	Echelle	Meuse	La Plante	5		5	
28/04/94	Electricité	Ourthe	Moircy				5
29/04/94	Echelle	Meuse	La Plante		5		
30/04/94	Echelle	Meuse	La Plante	5		5	
5/05/94	Echelle	Meuse	La Plante	5*	5*	5*	
8/05/94	Echelle	Meuse	La Plante	5*			
9/05/94	Echelle	Meuse	La Plante			5	
10/05/94	Electricité	Samson	Thon				5*
11/05/94	Echelle	Meuse	La Plante		5*		
16/05/94	Echelle	Meuse	La Plante		5*	5	
19/05/94	Electricité	Ourthe	Tibiéwé				5
24/05/94	Echelle	Meuse	La Plante	5*		5*	
26/05/94	Electricité	Ourthe	Rensiwé				5*
1/06/94	Echelle	Meuse	La Plante		5	5	
2/06/94	Electricité	Ourthe	Ortho				5
14/06/94	Electricité	Ourthe	Ortho				5*
14/06/94	Echelle	Meuse	La Plante	4	5*		
14/06/94	Filet	Meuse	Dave			5*	
21/06/94	Electricité	Ourthe	La Roche				5
24/06/94	Echelle	Meuse	La Plante		5		
28/06/94	Echelle	Meuse	La Plante		5		
29/06/94	Filet	Meuse	Ampsin			3	
5/07/94	Electricité	Ourthe	Maboge				3*
6/07/94	Echelle	Meuse	La Plante		5		
12/07/94	Echelle	Meuse	La Plante		5*		
12/07/94	Filet	Meuse	Dave	5			
19/07/94	Filet	Meuse	Dave			5*	
10/08/94	Filet	Meuse	Argenteau	5			
16/08/94	Filet	Meuse	Dave			5	
16/08/94	Echelle	Meuse	La Plante		5		
17/08/94	Electricité	Lesse	Walzin				5
7/09/94	Electricité	Néblon	Hamoir				5*
9/09/94	Filet	Meuse	Dave			5*	
11/09/94	Filet	Meuse	Dave	5*			
12/09/94	Echelle	Meuse	La Plante		5*		
11/10/94	Electricité	Ourthe	Maboge				4
12/10/94	Filet	Meuse	Dave	5			
19/10/94	Filet	Meuse	Andenne			3	

(différence de sex-ratio; sélectivité des dispositifs de capture). Nous avons également veillé à ce que, dans la mesure du possible, ces prélèvements soient les plus fréquents possibles surtout à l'approche de la période de reproduction et au cours de celle-ci. Idéalement, la fréquence que nous espérions atteindre était d'un prélèvement toutes les 2 semaines au cours de la vitellogenèse, d'un chaque semaine en période de reproduction et d'un par mois après les pontes. Cela ne fut pas toujours le cas à cause des conditions météorologiques empêchant la pêche ou n'incitant pas les poissons à entreprendre des migrations et à emprunter l'échelle à poissons. Les données journalières de température de la Meuse nous ont été communiquées par la Compagnie Intercommunale Bruxelloise des Eaux (CIBE).

Le tableau 4 reprend les dates de prélèvement, les espèces capturées, le nombre d'individus capturés par espèce, la méthode de pêche et le lieu de capture.

La détermination du sexe, aisée en période pré-nuptiale (mâles spermiantes et arborant des boutons nuptiaux; femelles ovulantes avec l'abdomen gonflé), se révélait plus difficile aux autres moments. Cela était néanmoins possible en introduisant un cathéter (diamètres de 0,5 et 1 mm) dans le conduit génital de l'individu et, après aspiration, en déterminant par simple observation la présence d'ovocytes ou non.

3. Mesure des paramètres morphologiques

Les poissons préalablement anesthésiés avec de l'éther monophénylique d'éthylèneglycol (2-5 ml/10 litres d'eau) sont pesés à l'aide d'une balance Sartorius avec une précision de 0,1 g et mesurés au millimètre près avec une règle à butée. Après la prise de sang, les poissons sont décapités, les ovaires et le foie sont prélevés et pesés avec une balance Mettler AE 270 Deltarange d'une précision de 0,1 mg. Grâce à ces données nous avons été capables de calculer différents paramètres morphologiques.

Le choix de ces différents paramètres n'est pas innocent, chacun nous apportant des renseignements sur différents aspects de la reproduction. Les facteurs de conditions (K et K_1) permettent de suivre les réactions des poissons face aux conditions

environnementales rencontrées dans leur milieu. Le rapport gonadosomatique (RGS) est un indicateur de l'état de maturité des poissons. Enfin, les rapports hépatosomatiques (RHS et RHS_m) donnent une idée de l'activité du foie au cours du cycle reproducteur.

3.1. Les facteurs de condition

Le facteur de condition K permet d'estimer la façon dont les poissons réagissent aux conditions environnementales en fonction de la saison et de l'état de maturité. Il se calcule par la formule :

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

où P est le poids total du poisson intact (en g) et L sa longueur totale (en cm).

Ce rapport étant dépendant du poids des gonades, nous sommes amenés à définir un facteur K₁, en relation avec le développement de la masse gonadale.

$$K_1 = (P-G) \times 100/L^3$$

où P et L sont les mêmes que précédemment et G représente le poids des gonades (en g).

K-K₁ donne une estimation du développement gonadal corrélée à la condition de l'animal. Cette valeur est représentée par une aire comprise entre les profils de ces deux paramètres.

3.2. Le rapport gonadosomatique

Le rapport gonadosomatique (RGS) est le rapport entre le poids des gonades (G en g) et le poids total du poisson (P en g) :

$$RGS = 100 \times (G/P)$$

Ce rapport est très souvent utilisé comme indice de l'activité des gonades et de la préparation à la ponte.

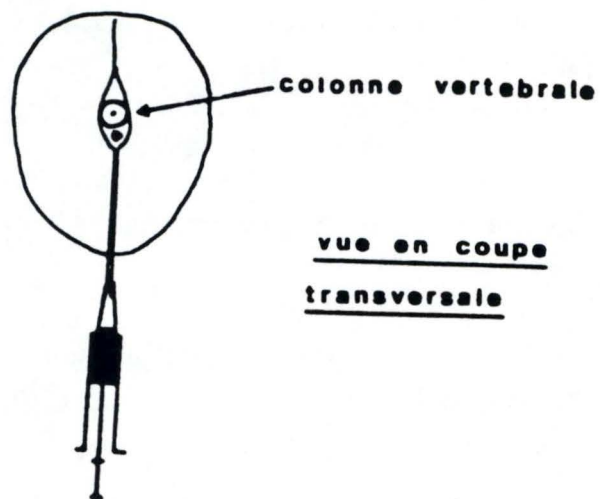
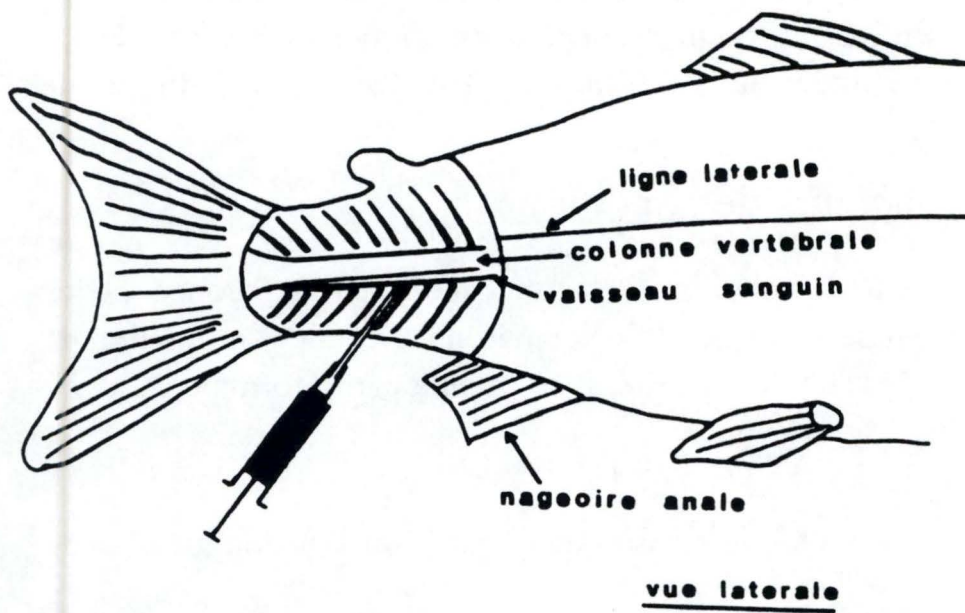


Figure 26 : Schéma montrant la position de l'aiguille lors de la prise de sang.

3.3. Les rapports hépatosomatiques

Le rapport hépatosomatique (RHS) est le rapport entre le poids du foie du poisson (F en g) et le poids total du poisson (P en g) :

$$\text{RHS} = 100 \times (\text{F}/\text{P})$$

Le RHS n'étant pas indépendant du poids des gonades, nous sommes amenés à définir un indice hépatosomatique modifié RHS_m , en relation avec le développement de la masse gonadale :

$$\text{RHS}_m = 100 \times \text{F}/(\text{P}-\text{G})$$

où G représente le poids des gonades (en g).

Le RHS_m aura surtout de la signification en période de reproduction car il montrera la contribution du foie par rapport au corps du poisson sans que cela ne soit faussé par le poids élevé des ovaires en cette période.

4. Les prélèvements sanguins et les différents dosages

Le prélèvement sanguin est effectué au niveau du pédoncule caudal au moyen d'une seringue héparinée (volume : 1 ml de marque Plastipak et aiguille de 0,7 mm de diamètre de marque Terumo) (Figure 26). Un maximum de sang est prélevé chez chaque individu et placé dans des eppendorfs préalablement héparinés. Le plasma obtenu par centrifugation (15 minutes à 4000 g; centrifugeuse MLWT54) est ensuite recueilli à l'aide d'une pipette pasteur et congelé à -20°C jusqu'au moment des dosages.

4.1. Le dosage du phosphore protéique

Ce dosage a été réalisé sur les échantillons de plasma par la méthode de Martin et Doty (1949) modifiée selon Jarred et Wallace (1968) suivant la procédure décrite à la figure 27. L'annexe 1 reprend la composition des différents produits nécessaires pour ce dosage.

C'est un dosage colorimétrique précédé d'une série d'extractions servant à isoler les protéines des autres constituants du

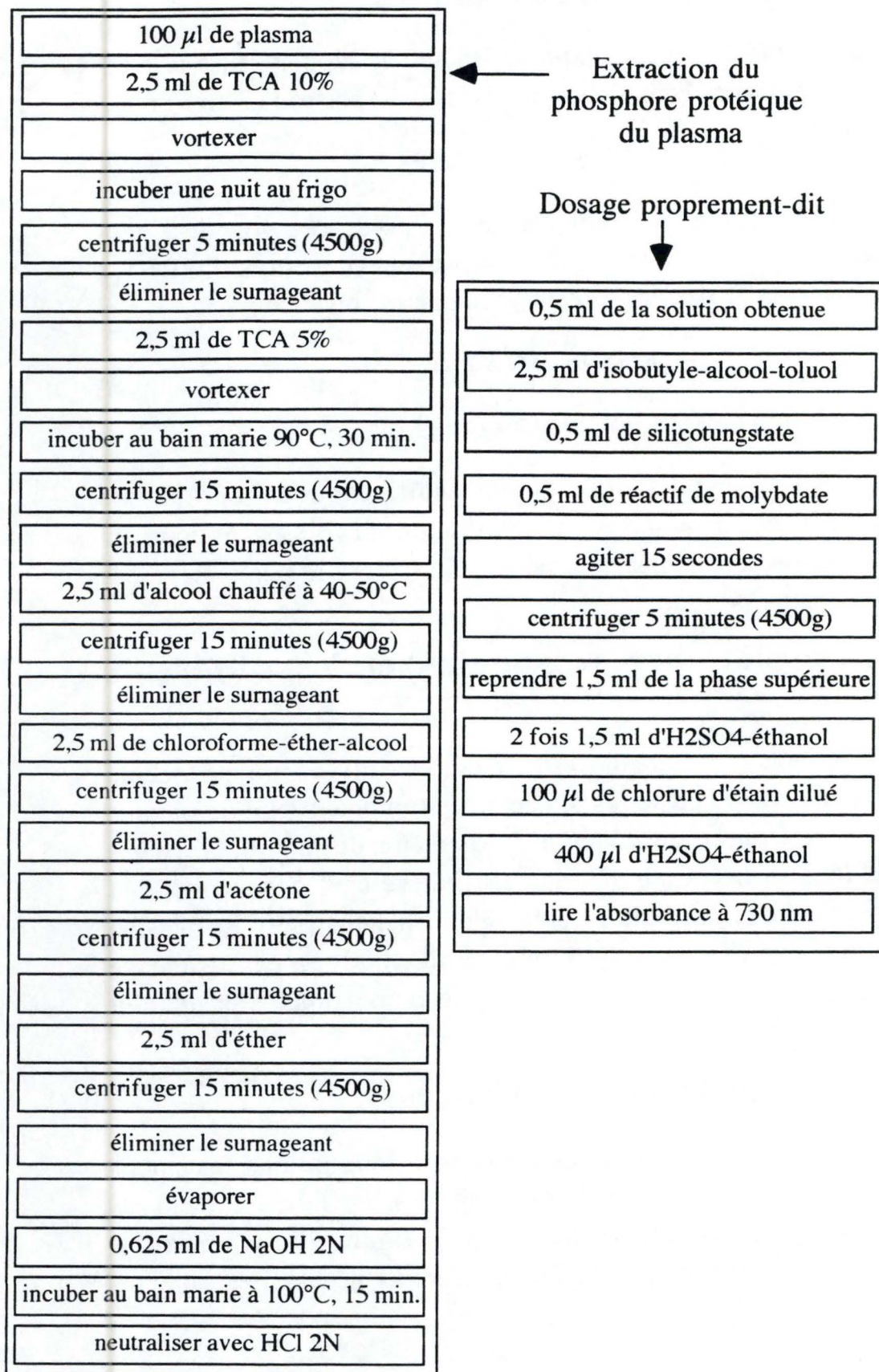


Figure 27 : Technique de dosage du phosphore protéique plasmatique. Modifié d'après Wallace et Jared, 1968.

plasma et d'une dénaturation de ces protéines de manière à libérer le phosphore. Une courbe étalon préalablement réalisée avec du KH_2PO_4 permet d'établir une relation densité optique-concentration dans une gamme de concentrations appropriées (0, 1, 2, 5, 10, 20, 32 et 40 μg de P/ml). Par l'intermédiaire de cette courbe, les valeurs en densité optique obtenues après lecture des échantillons au spectrophotomètre peuvent être converties en valeurs de concentration. Les résultats sont exprimés en μg de phosphore protéique par ml de plasma.

4.2. Le dosage de la 17β -oestradiol

4.2.1. Extraction de la 17β -oestradiol

Le dosage des stéroïdes par RadioImmunoAssay (RIA) dans les liquides biologiques est effectué après extraction par un solvant organique. L'extraction par des solvants de polarité adaptée à celle des stéroïdes à extraire permet de les concentrer. En effet, après addition de solvant, il se produit une rupture des liaisons hormone-protéine par dénaturation des protéines.

La méthodologie suivie pour l'extraction de la 17β -oestradiol est présentée à la figure 28.

4.2.2. Dosage proprement-dit de la 17β -oestradiol

Le RIA est basé sur la compétition entre une quantité connue d'hormone marquée radioactivement et une quantité variable et inconnue d'hormone non marquée se trouvant dans l'échantillon à analyser vis-à-vis d'un anticorps qui leur est spécifique. La quantité d'anticorps et d'hormone marquée restant constante, toute augmentation d'hormone non marquée entraîne une réduction de la quantité d'hormone marquée se fixant aux anticorps. Pour réaliser un dosage, une courbe standard est d'abord établie, elle montre la décroissance du pourcentage d'hormone marquée qui se fixe aux anticorps en présence d'une quantité progressivement croissante d'hormone non marquée. Le pourcentage d'hormone marquée qui se fixe aux anticorps est alors déterminé dans des conditions identiques mais en utilisant à la place des quantités connues d'hormone non marquée, les milieux biologiques dont on désire connaître le taux de

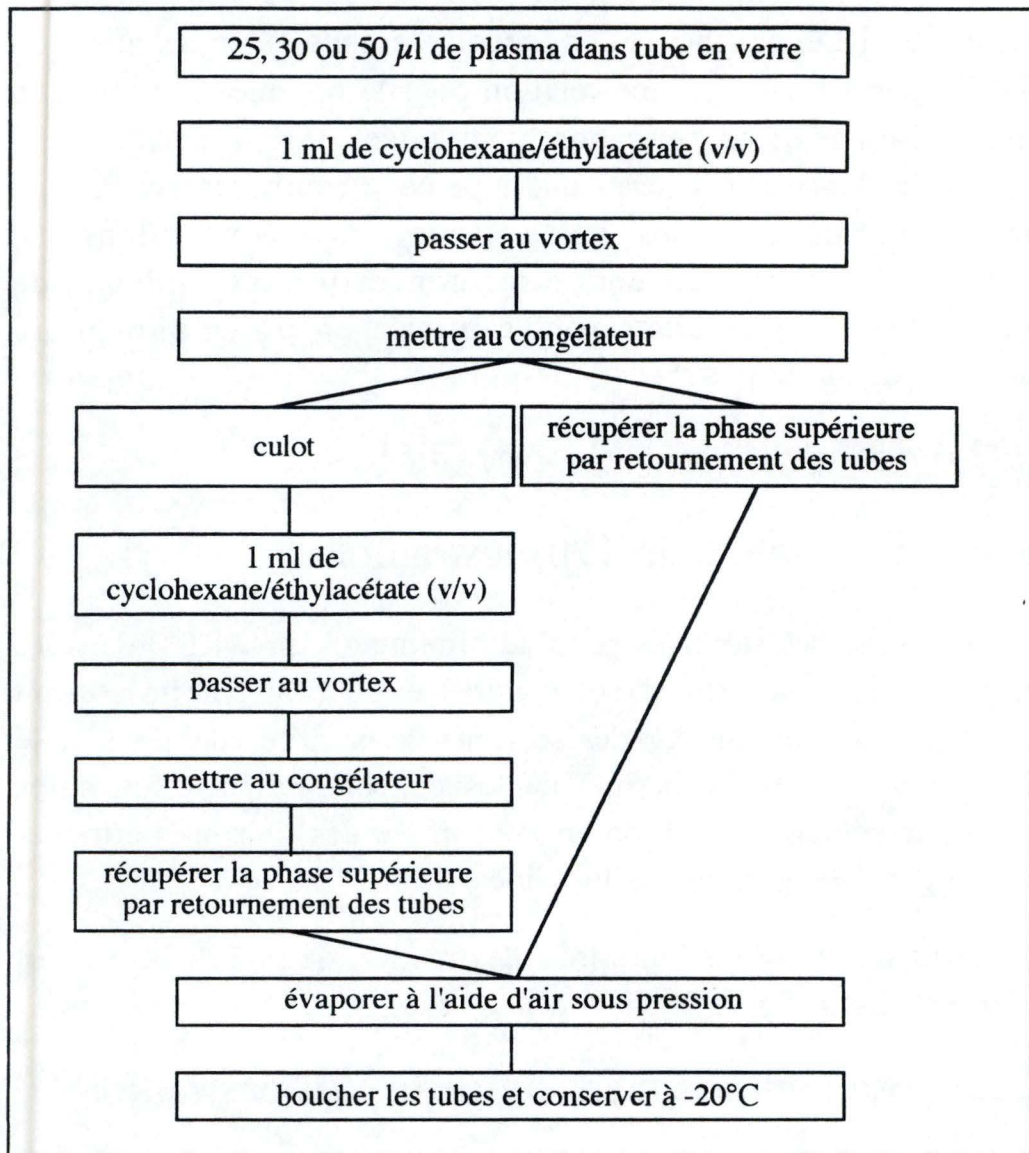


Figure 28 : Méthodologie de l'extraction de la 17β-oestradiol.

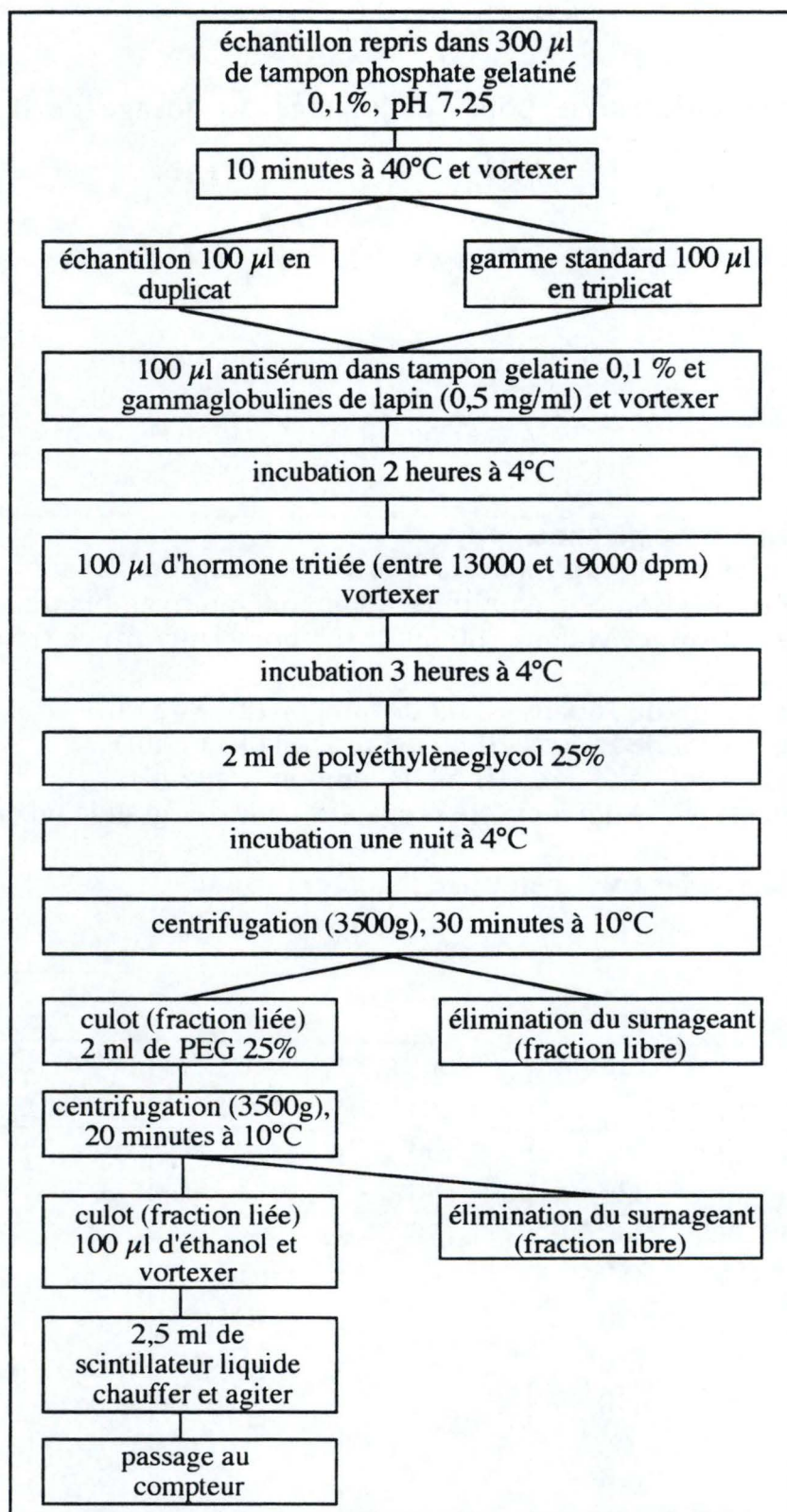


Figure 29 : Protocole de dosage de la 17 β -oestradiol.

Tableau 5 : Méthodologie suivie pour l'étalonnage du dosage de la 17 β -oestradiol.

- Tampon RIA avec gelatine.
 - Solution mère de 100 μ g/ml de 17 β -oestradiol dans de l'éthanol. La solution mère (M) doit être équilibrée à la température ambiante.
 - Solution A : 1 ml de M dans 100 ml de tampon (1mg/ml) en fiole jaugée.
 - Solution B : 1 ml de A dans 10 ml de tampon (100 ng/ml).
 - Solution C : 1 ml de B dans 10 ml de tampon (10 ng/ml).
 - Solution D : 1 ml de C dans 10 ml de tampon (1 ng/ml).
- Les solutions B, C, D doivent être préparées dans des grands tubes en verre.
 Dans des tubes à hémolyse en verre préparez ensuite :

Dose (pg)	Vol. tampon (μ l)	vol. B (μ l)	vol. C (μ l)	vol. D (μ l)
3000	700	300	-	-
1800	820	180	-	-
1100	890	110	-	-
650	350	-	650	-
400	600	-	400	-
250	750	-	250	-
150	850	-	150	-
90	100	-	-	900
55	450	-	-	550
35	650	-	-	350
20	800	-	-	200
12	880	-	-	120
8	920	-	-	80
5	950	-	-	50

cette hormone. Cette valeur est alors portée sur la courbe de référence et la quantité d'hormone présente dans l'échantillon peut être déduite.

Ce dosage a été réalisé au Laboratoire de Physiologie Animale des Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix (Professeur R. PAQUAY). La méthode employée est décrite à la figure 29. L'annexe 2 reprend la composition des différents produits nécessaires pour ce dosage. L'hormone froide, l'hormone marquée ainsi que les anticorps et les gammaglobulines nous ont été fournis par le Docteur A. FOSTIER du Laboratoire de Physiologie des Poissons de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) à Rennes (France).

La courbe standard est réalisée de la même manière que les échantillons mais les 100 µl d'échantillon sont remplacés par 100 µl de stéroïdes purs à des doses croissantes : 5, 8, 12, 20, 35, 55, 90, 150, 250, 400, 650, 1100, 1800 et 3000 pg et en triplicat. Nous avons également fait 6 blancs, 3 nuls et 4 standards totaux, la méthodologie de cet étalonnage est reprise dans le tableau 5.

Une fois le dosage terminé, le compteur (BECKMAN LS6000SC) nous donne l'activité de chaque tube en cpm (coup par minute). Après avoir calculé la concentration de chaque tube (C_t), la concentration réelle en ng/ml peut être obtenue par la formule :

$$\frac{C_t \text{ (pg/tube)} \times \text{quantité de tampon de reprise } (\mu\text{l})}{\text{quantité pour le dosage } (\mu\text{l}) \times \text{quantité de plasma de départ } (\mu\text{l})}$$

5. Histologie des ovaires

Les analyses histologiques ont été effectuées au Département d'Histologie-Embryologie (Professeur R. LELoup) des Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix.

5.1. Coupes et coloration

Après avoir pesé les ovaires, une partie de ceux-ci est placée durant 48 heures dans une solution de Bouin (fixateur histologique dont la composition est la suivante : solution aqueuse saturée en acide

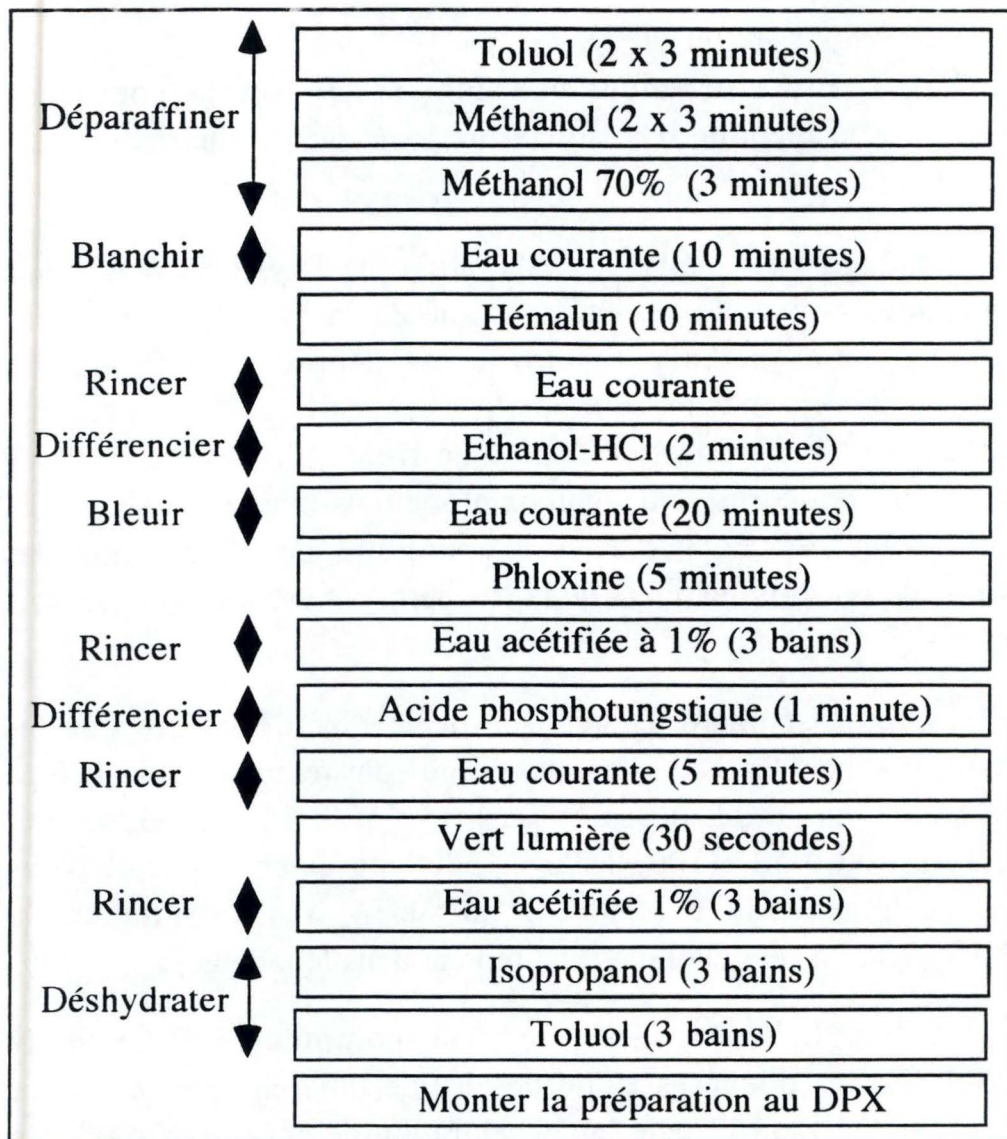


Figure 30 : Routine histologique du trichrome à froid. D'après Langeron, 1942.

picrique, 75%, formol de commerce, 20% et acide acétique glacial, 5%).

Après déshydratation et enrobage dans la cytoparaffine à 60,9°C, les ovaires sont coupés à 6 μm à l'aide d'un microtome (Spencer 820) et colorés par un trichrome à froid : hémalun-phloxine-vert lumière (Langeron, 1972), selon la procédure décrite à la figure 30.

5.2. Observations des coupes

Ces observations ont été réalisées sur une seule coupe à l'aide d'un microscope Wild équipé d'objectifs grossissants 3 et 10 fois. En effet, les tests statistiques réalisés par Rinchar (1994) sur un ovaire de chaque espèce n'ont pas montré de différences significatives quant à la répartition des tailles et stades ovocytaires.

L'observation des coupes d'ovaires a permis la détermination du stade de maturité atteint par le poisson. Celui-ci est déterminé par le stade ovocytaire le plus avancé présent au sein de l'ovaire. Grâce à cette information, nous avons pu mettre en relation les variations des concentrations plasmatiques en phosphore protéique et en 17β -oestradiol avec les stades de maturité des individus.

Voici les stades considérés et leur description (Planche 2) :

- le stade 1 ou protoplasmique : les ovocytes sont de petite taille et possèdent un gros noyau central. De nombreux nucléoles sont accolés à la membrane nucléaire. Le cytoplasme est très basophile et les membranes ovocytaires sont indifférenciées.
- le stade 2 ou vitellogénèse endogène : accumulation de vésicules de vitellus qui vont progressivement remplir le cytoplasme. Augmentation du volume cellulaire. Les membranes cellulaires et folliculaires vont en se différenciant de plus en plus.
- le stade 3 ou vitellogénèse exogène : présence d'inclusions fortement colorables à la phloxine fusionnant progressivement en globules et repoussant les vésicules de vitellus en périphérie de l'ovocyte.

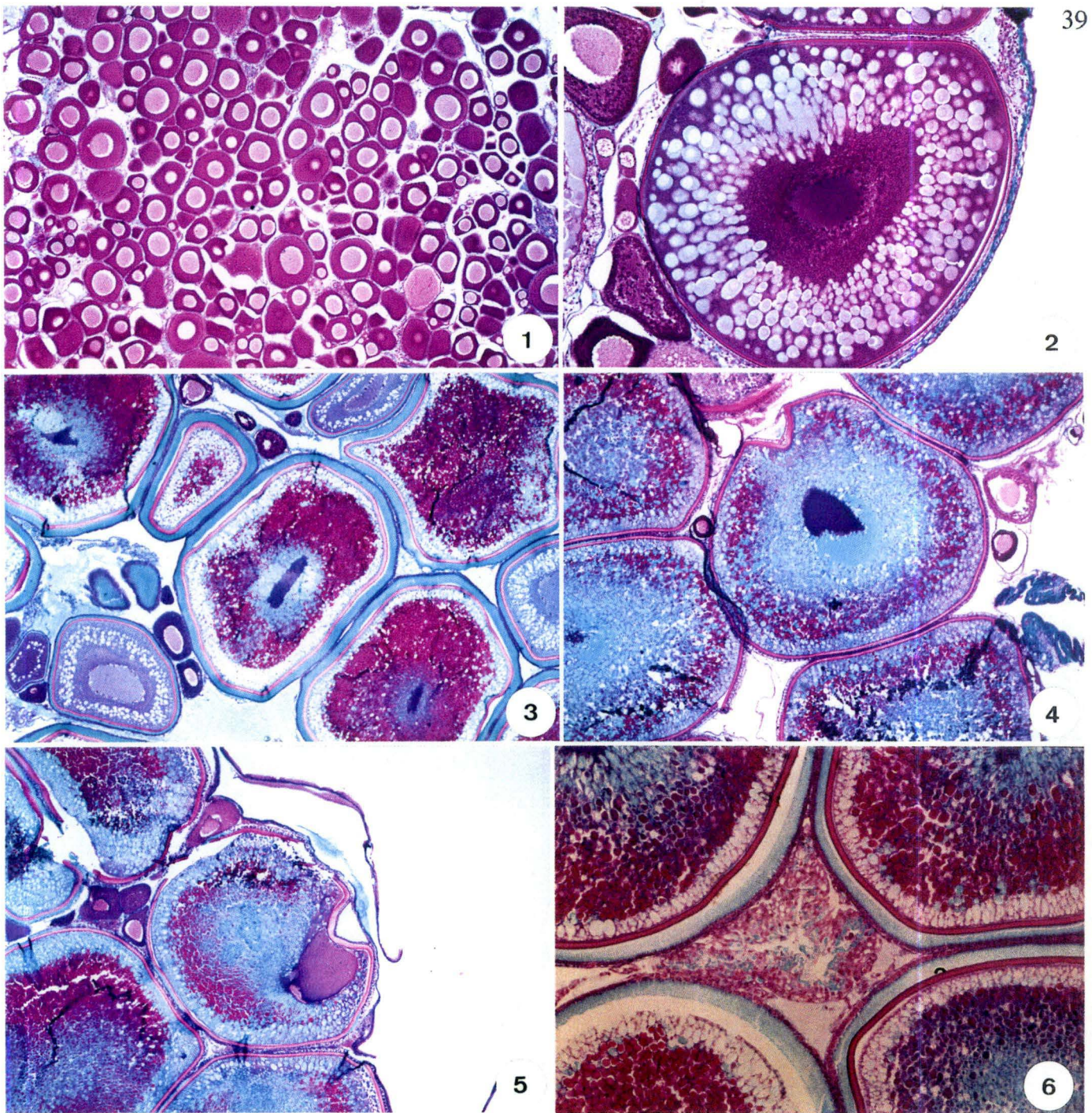


Planche 2 : Présentation des différents stades ovocytaires

1. Ovocytes au stade protoplasmique (stade 1) chez le goujon (grossissement 40X)
2. Ovocyte en vitellogenèse endogène (stade 2) chez le gardon (grossissement 100X)
3. Ovocytes en vitellogenèse exogène (stade 3) chez le goujon (grossissement 40X)
4. Ovocyte en maturation (stade 4) avec présence du micropyle et début de migration du noyau chez le gardon (grossissement 40X)
5. Ovocyte en maturation (stade 4) avec accolement du noyau au micropyle chez le gardon (grossissement 40X)
6. Follicule postovulatoire entouré d'ovocytes vitellogéniques (stade 5) chez le goujon (grossissement 32X)

- le stade 4 ou maturation finale : présence du micropyle et migration du noyau ou son accollement au pôle animal.
- le stade 5 ou préparation à une nouvelle ponte : présence de follicules post-ovulatoires et d'ovocytes au stade 2, 3, ou 4 (stade absent chez les gardons).
- le stade 6 ou postponte : présence d'ovocytes protoplasmiques, de follicules atrétiques post-ovulatoires, parfois de follicules atrétiques pré-ovulatoires.

6. Histologie et cytologie du foie

Les analyses histologiques et cytologique ont été effectuées respectivement au Département d'Histologie-Embryologie et au Département de Microscopie Electronique (Professeur R. LELOUP) des Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix.

6.1. Histologie du foie

Nous avons mis en évidence des modifications du contenu du foie en lipides et en glycogène en relation avec le cycle sexuel. Ces substances sont mobilisées de manière considérable au cours de la reproduction. Le glycogène est une source d'énergie pour les différents mécanismes physiologiques. Les lipides, selon leur nature, ont différents rôles : mobilisation pour la formation du vitellus, précurseur de la vitellogénine, source d'énergie, stéroïdogénèse. L'estimation de l'évolution du contenu hépatique de ces divers constituants s'est faite de manière visuelle par comparaison des coupes entre elles.

La méthode utilisée est celle des coupes à congélation, ce type de préparation du tissu est recommandé pour la mise en évidence des lipides car les méthodes classiques de fixation les dissolvent.

Après avoir pesé le foie, une partie de celui-ci est congelée de la manière suivante :

- on fabrique de petites cupules en papier aluminium;
- dans le fond de ces cupules on verse un peu de milieu d'enrobage pour la congélation (Tissue Tek);

Oxyder dans une solution aqueuse à 0,5% d'acide périodique (10 minutes)
Laver dans l'eau courante
Passer successivement dans l'éthanol 70%, 95% et absolu
Solution de Dimedon à 5% dans l'éthanol absolu (3 heures) à 60°C
Rincer successivement dans l'éthanol absolu, 95% et 70% puis dans l'eau
Traiter au réactif de Schiff (10 minutes)
Rincer dans 3 bains successifs d'acide sulfureux (2 minutes/bain)
Laver à l'eau courante (2 à 5 minutes)
Coloration de fond à l'hémalum (5 minutes)
Laver à l'eau courante (10 minutes)
Passer 2 bains successifs d'isopropanol
Passer 2 bains successifs de toluol
Monter au DPX

Figure 31 : Routine histologique du PAS dimedon pour le glycogène. D'après Hotchkiss, 1948.

Post-fixer dans du formol-calcium de Holt (1 heure)
Solution aqueuse à 2,5% de brome (30 minutes) à température ambiante, dans un récipient fumé
Laver dans l'eau courante
Métabisulfite de sodium à 0,5% (1 minute) pour ôter l'excès de brome
Laver abondamment dans l'eau distillée
Rincer dans de l'éthanol 70%
Colorer avec une solution saturée de Soudan noir B dans de l'éthanol 70% (15 minutes)
Différencier dans l'éthanol 70% (1 à 2 minutes)
Contre-colorer les noyaux avec du vert de méthyl 1% (5 minutes)
Laver à l'eau et monter au glycergel

Figure 32 : Routine histologique du brome-Soudan noir B pour les lipides. D'après Bayliss et Adams, 1972.

- on étale alors dans le fond de cette cupule un morceau de foie à l'aide d'une pince;
- on remplit aux trois-quarts la cupule avec du Tissue Tek;
- on place les cupules dans un bain de méthanol à -80°C. La température est maintenue à -80° C grâce à une galette de CO₂;
- après congélation, les blocs obtenus sont stockés à -80°C.

Des coupes de 5 µm sont réalisées au cryostat (Microm HM500OM). Ces coupes sont récupérées sur des lames Superfrost Plus et stockées à -80°C en attendant d'être colorées. Les observations ont été réalisées sur une seule coupe à l'aide d'un microscope Wild équipé d'objectifs grossissants 3 et 10 fois.

6.1.1. Mise en évidence du glycogène hépatique

La coloration utilisée dans ce but est un PAS Dimedon (Hotchkiss, 1948) dont le protocole est décrit à la figure 31. Le glycogène est coloré en rouge.

6.1.2. Mise en évidence des lipides hépatiques

6.1.2.1. Brome-Soudan noir B pour les lipides (Bayliss et Adams, 1972)

Le protocole utilisé est décrit à la figure 32. Les lipides sont colorés en noir.

6.1.2.2. Sulfate-Bleu de Nil pour les phospholipides et les graisses neutres (Cain, 1947)

Le protocole utilisé est décrit à la figure 33. Les phospholipides sont colorés en bleu foncé et les graisses neutres (glycérides) en rose.

6.2. Cytologie du foie

L'examen cytologique ne s'est pas réalisé chaque fois, pour des raisons de temps et d'argent. Des échantillons de foie ont été traités quand les poissons étaient en période de vitellogenèse exogène, juste avant la ponte, juste après celle-ci, une fois pendant les pontes multiples (pour les espèces impliquées), quelques semaines après la fin des pontes et une dernière fois en septembre (plus d'un mois après la fin des pontes) (Tableau 4).

Post-fixer dans du formol-calcium de Holt (1 heure)

Colorer dans une solution de sulfate-bleu de Nil
(30 minutes) à 37°C

Différencier dans l'acide acétique 1% (2 minutes)

Laver à l'eau et monter au glycergel

Figure 33 : Routine histologique du sulfate-bleu de Nil pour les phospholipides et les graisses neutres. D'après Cain, 1947.

Sur les 5 individus capturés, 3 étaient choisis au hasard. Une fois le foie extrait et pesé, nous aspergions un morceau de celui-ci avec de la glutaraldéhyde 2,5% de manière à éviter toute dégénérescence du tissu au contact de l'air. Ensuite, nous avons découpé de petits cubes de foie de 1 mm de côté que nous traitons de la façon décrite à la figure 34. Les observations ont été réalisées sur un microscope électronique à transmission (EM 301).

Les structures prises en compte au cours de cette étude sont en relation avec l'intense activité du foie pendant la vitellogenèse. Nous avons donc suivi le réticulum endoplasmique rugueux, les inclusions lipidiques, les mitochondries, le glycogène, les vésicules de sécrétion et les corps myéloïdes (structures membranaires dégénérées suite à une activité intense).

L'étude des modifications hépatiques entreprise au cours de ce travail (histologie et cytologie) est à ce stade purement descriptive et ne constitue qu'une première approche destinée à apporter des pistes d'investigations pour les quatre espèces considérées. Contrairement aux ovaires, pour lesquels il a été montré qu'une seule coupe est représentative de l'état de l'organe, nous ne disposons pas de telles données pour le foie. Néanmoins, nous avons postulé une homogénéité de la distribution du glycogène et des lipides puisque la structure même du foie présente une grande constance.

En ce qui concerne le glycogène, les phospholipides et les glycérides, nous avons suivi leur évolution en fonction du stade de maturité et du temps en attribuant à chaque observation une cote de 0 à 5 (absent, très peu, peu, présent, abondant, très abondant). Les valeurs utilisées sont le fruit de la moyenne arithmétique de ces cotes pour le stade considéré ou la date considérée.

7. Analyses des résultats

Les statistiques descriptives ont été utilisées pour décrire et condenser l'ensemble de nos résultats. Nous avons ainsi calculé, pour chaque date de prélèvement, la moyenne arithmétique et l'erreur standard des valeurs du RGS, du RHS et RHS_m, du K et K₁, des teneurs plasmatiques en phosphore protéique et 17 β -oestradiol.

Fixer les échantillons dans la glutaraldéhyde 2,5% (2H30)
Rincer les échantillons dans du tampon cacodylate 0,2M, pH = 7,4 (3 x 10 minutes)
Placer les échantillons dans une solution (v/v) d'acide osmique 2% et de tampon cacodylate 0,2 M, pH = 7,4 (1H)
Rincer les échantillons dans du tampon cacodylate 0,1M, pH = 7,4 (3 x 30 minutes)
Placer les échantillons 1 nuit au frigo dans du tampon cacodylate 0,1M, pH = 7,4
Déshydrater les échantillons dans les alcools 30% (1 x 5 minutes et 1 x 10 minutes) 50% (1 x 5 minutes et 1 x 10 minutes) 70% (1 x 5 minutes et 1 x 10 minutes) 90% (1 x 5 minutes et 1 x 10 minutes) 98% (1 x 5 minutes et 1 x 10 minutes) absolu (3 x 10 minutes)
Mettre les échantillons dans l'oxyde de propylène (4 x 5 minutes)
Mettre les échantillons dans une solution d'oxyde de propylène et d'épon (v/v) (2 x 15 minutes)
Mettre les échantillons dans l'épon pur dans un rotor à 37°C pendant 2 heures
Mettre les échantillons en gellules
Mettre les gellules à l'étuve (température ascendante : 37°C une nuit; 45°C 24 heures et 60°C 72 heures)
Coupes semi-fines (2 μ m)
Coloration topographique au bleu de toluidine
Repérage d'une zone intéressante
Coupes ultrafines (500A)
Coloration à l'acétate d'uranyl (20 minutes) et au citrate de plomb (5 minutes)

Figure 34 : Méthodologie suivie pour la microscopie électronique

Après avoir testé l'homogénéité de nos variances par le test de Bartlett, nous avons réalisé une analyse de la variance à 1 critère de classification (ANOVA 1) de manière à tester séparément l'effet du temps et du stade de maturité sur nos variables : le RGS, le RHS, le RHS_m , les facteurs de condition K et K_1 , le phosphore protéique et la 17β -oestradiol. Dans les cas où l'homogénéité des variances ne se vérifiait pas, nous avons appliqué une transformation mathématique (logarithmique) à nos variables de manière à rendre les variances homogènes. Nous avons ensuite effectué des contrastes de manière à comparer les moyennes deux à deux par la méthode de Scheffé.

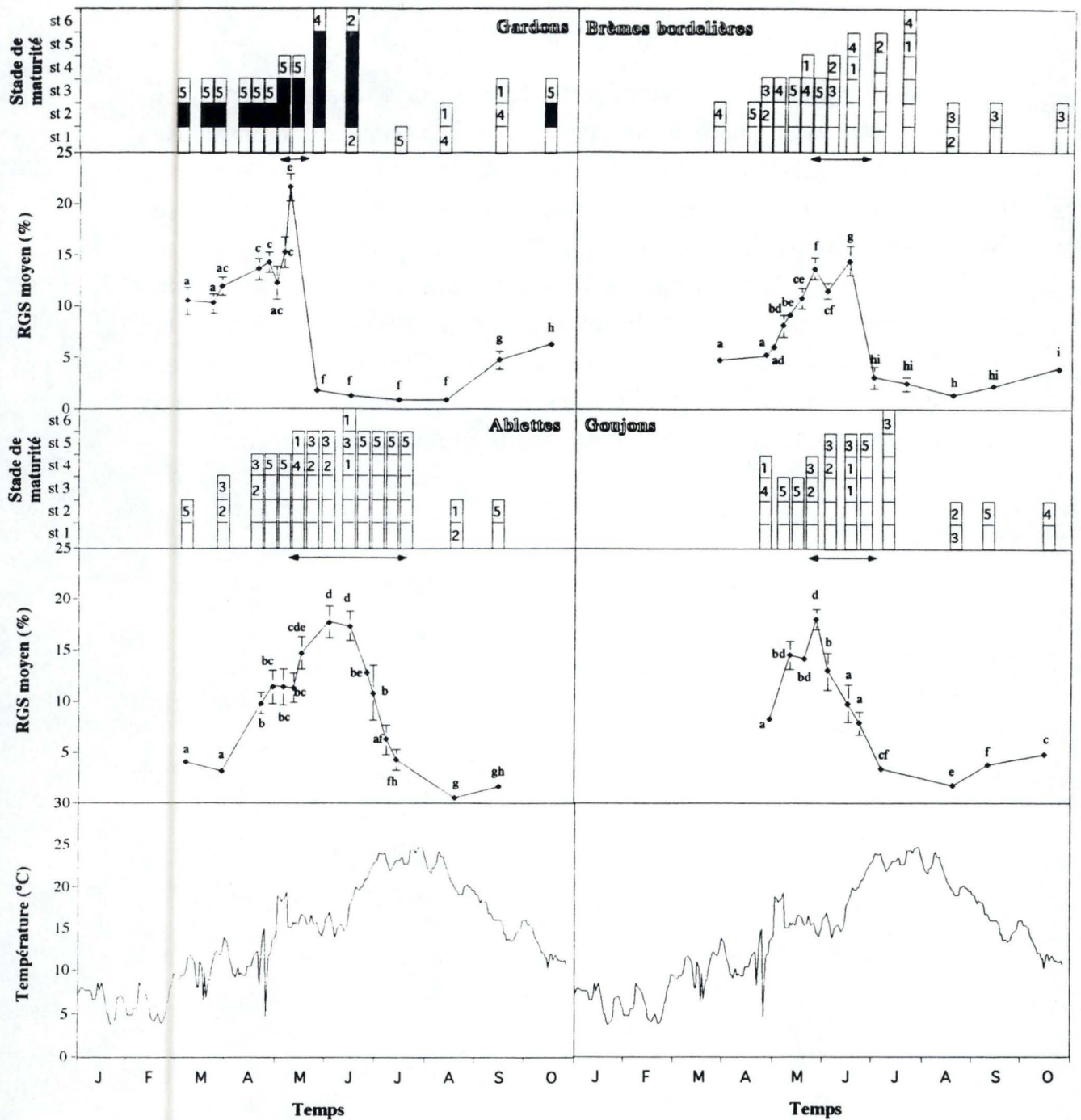


Figure 35 : Evolution du rapport gonadosomatique (RGS) en % en fonction du temps. Les histogrammes montrent l'évolution des stades de maturité où plus précisément indiquent le stade le plus avancé rencontré au sein de l'ovaire. Chaque chiffre représente le nombre d'individus au stade considéré, la somme de ces chiffres dans une colonne donne le nombre d'individus sur lequel la moyenne a été calculée. Les lettres servent en tant que descripteur des contrastes.

<----> = durée approximative de la période de ponte

les barres verticales = les erreurs standards

Le graphique du bas présente l'évolution de la température enregistrée en Meuse du 1^{er} janvier au 24 octobre 1994.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS

Les campagnes de prélèvements ont débuté le 7 mars pour se terminer le 19 octobre. L'ensemble des résultats individuels est repris dans l'annexe 3.

1. Evolution des paramètres morphologiques

1.1. Le rapport gonadosomatique

La figure 35 présente l'évolution du rapport gonadosomatique (RGS) en fonction du temps pour les 4 espèces considérées. Les histogrammes surplombant les graphes indiquent l'évolution du stade de maturité le plus avancé chez chaque individu et la somme des chiffres d'une même colonne donne le nombre d'individus sur lequel la moyenne a été calculée. Les cases noircies pour les gardons signifient que les stades correspondents ne peuvent être rencontrés à ce moment puisque le gardon possède une ovogenèse groupe-synchrone et qu'on n'observe jamais que deux populations d'ovocytes, à savoir des ovocytes au stade protoplasmique (stade 1) et des ovocytes en cours de croissance mais tous au même stade. Pour les trois autres espèces, les cases laissées blanches indiquent la présence de ces stades au sein de l'ovaire. La double flèche délimite approximativement la période de ponte. Sur cette même figure se trouve l'évolution de la température en Meuse.

Les profils obtenus montrent une évolution saisonnière avec des valeurs qui augmentent progressivement à partir de la fin de l'hiver et atteignent un maximum juste avant le début des pontes (gardon : 21,61%, brème bordelière : 14,46%, ablette : 17,67% et goujon : 17,97%). Ceci nous permet de constater que le RGS atteint un niveau plus élevé chez le gardon. Nous assistons ensuite à une diminution du RGS qui est très brusque pour le gardon et traduit la brièveté de sa durée de ponte alors que pour les pondeurs multiples, cette diminution est progressive. Chez le gardon, la ponte a eu lieu aux alentours du 8 mai, chez l'ablette les pontes se sont étalées du 11 mai au 12 juillet, chez la brème bordelière du 24 mai au 29 juin tandis que chez le goujon, elles sont observées du 26 mai au 21 juin. Nous

constatons donc qu'outre le fait que la durée de la période de ponte est plus courte chez le gardon, celle-ci a lieu avant celle des pondeurs multiples. Nous remarquons aussi que l'ablette a une période de ponte beaucoup plus étalée que les deux autres pondeurs multiples. La température de l'eau à laquelle débute la période de ponte est aussi un peu moins élevée chez le gardon (15,2°C) que chez la brème bordelière (16,6°C), l'ablette (15,7°C) et le goujon (15,7°C données indicatrices puisque ceux-ci ont été pêchés en rivière).

L'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) indique un effet hautement significatif ($P < 0,01$) du temps sur le RGS pour les 4 espèces (Annexe 4). Une transformation logarithmique s'est imposée pour les valeurs de RGS chez le gardon et le goujon afin d'homogénéiser les variances. Voyons maintenant ce que nous montre l'analyse des contrastes (Annexe 5). A chaque observation correspond 1 ou plusieurs lettres. Quand deux points ont au moins une lettre en commun, cela signifie que nous n'avons pas pu montrer de différence significative entre eux. Chez chacune des espèces, la valeur correspondant au maximum est toujours significativement différente des valeurs calculées avant le début et à la fin de la période de ponte.

Chez le gardon, nous pouvons remarquer que les deux premières valeurs enregistrées le 7 et 23 mars sont respectivement de 10,47 et 10,22% ce qui est supérieur à celles enregistrées au cours des deux premières captures chez la brème bordelière (4,72 et 5,26%), chez l'ablette (4,04 et 3,16%) et au cours du premier prélèvement chez le goujon (8,19%). Chez le gardon, ces valeurs correspondent à des individus déjà tous en vitellogenèse exogène (stade 3), stade présent chez tous les individus capturés depuis le mois d'octobre. Signalons aussi que la dernière phase de croissance du RGS chez le gardon correspond au passage d'ovocytes du stade de vitellogenèse exogène (stade 3) à celui de maturation (stade 4). Au contraire chez la brème bordelière et l'ablette, lors des deux premières captures, tous les individus ne sont pas encore en vitellogenèse exogène. La différence avec le goujon est moins nette, mais le prélèvement fut tardif ce qui fait que les poissons étaient déjà fort avancés eux aussi.

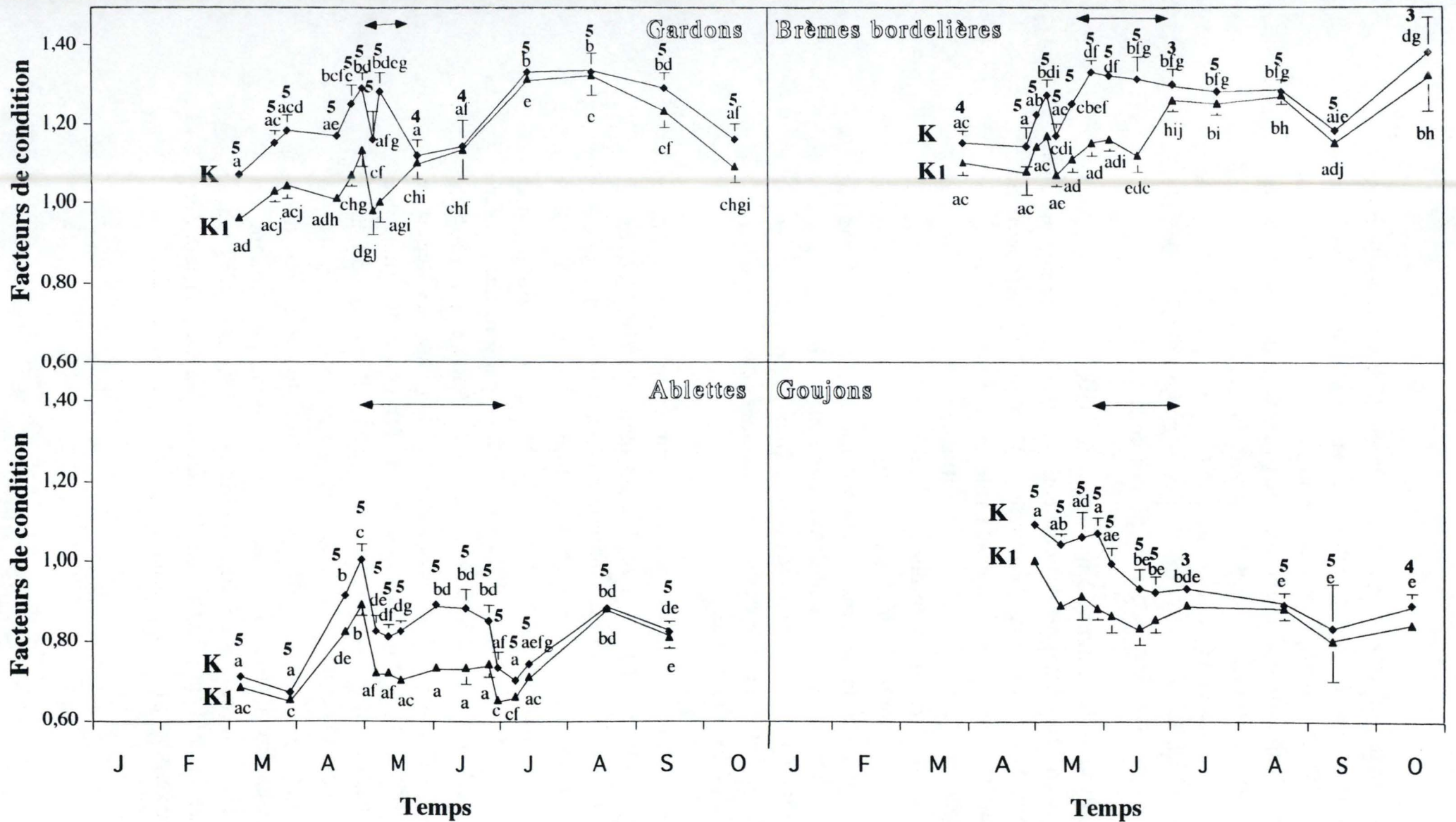


Figure 36 : Evolution simultanée du facteur de condition K (◆) et du facteur de condition modifié K₁ (▲) en fonction du temps.

<----> = durée approximative de la période de ponte, les barres verticales = les erreurs standards

Les chiffres indiquent le nombre d'individus sur lequel la moyenne a été calculée. Les lettres sont les descripteurs des contrastes.

Nous constatons une grande homogénéité des stades ovariens chez le gardon : la plupart du temps, tous les individus capturés le même jour présentaient un stade de maturité identique. Nous avons néanmoins observé des exceptions : le 10 août et le 11 septembre au moment où la recrudescence gonadale reprend.

La figure 35 indique le stade le plus avancé rencontré au sein de l'ovaire pour chaque individu. Pour le stade 5, elle ne montre pas chez les pondeurs multiples, les autres stades présents au sein de l'ovaire. Cette information nous a été cependant précieuse dans notre analyse. En effet, chez les pondeurs multiples, étaient en outre présents des ovocytes en vitellogenèse endogène et exogène. Chez la brème bordelière, le nombre d'ovocytes arrivés à maturité a diminué assez rapidement à mesure que l'on progressait dans la période de ponte de même que le nombre d'ovocytes vitellogéniques. Chez l'ablette, et le goujon, la persistance d'ovocytes en vitellogenèse exogène avancée et arrivant à maturité fut observée plus longtemps.

1.2. Les facteurs de condition

Les graphes de la figure 36 montrent les variations des facteurs de condition K et K_1 au cours du temps. Les chiffres associés à chaque point représentent le nombre d'individus sur lequel la moyenne a été calculée. La double flèche représente toujours la durée approximative de la période de ponte. Le système de lettrage est utilisé pour présenter les résultats des contrastes.

Sur ces graphes, nous constatons que l'influence des gonades sur le calcul de K , traduite par la surface entre les deux tracés, est maximale à des moments différents selon la stratégie de ponte considérée. Chez le gardon, celle-ci est précoce et considérable un mois avant le début des pontes ($K - K_1 = 0,14$). Chez les pondeurs multiples, il faut pratiquement attendre le début des pontes pour que cette influence soit importante. Ceci est bien en accord avec l'évolution tardive et rapide du RGS.

L'ANOVA 1 a montré l'effet hautement significatif ($P < 0,01$) du temps sur K et K_1 chez toutes les espèces excepté sur K_1 chez le goujon (Annexe 6). Tournons-nous maintenant vers les résultats des contrastes (Annexe 7) : chez les espèces pour lesquelles nous avons

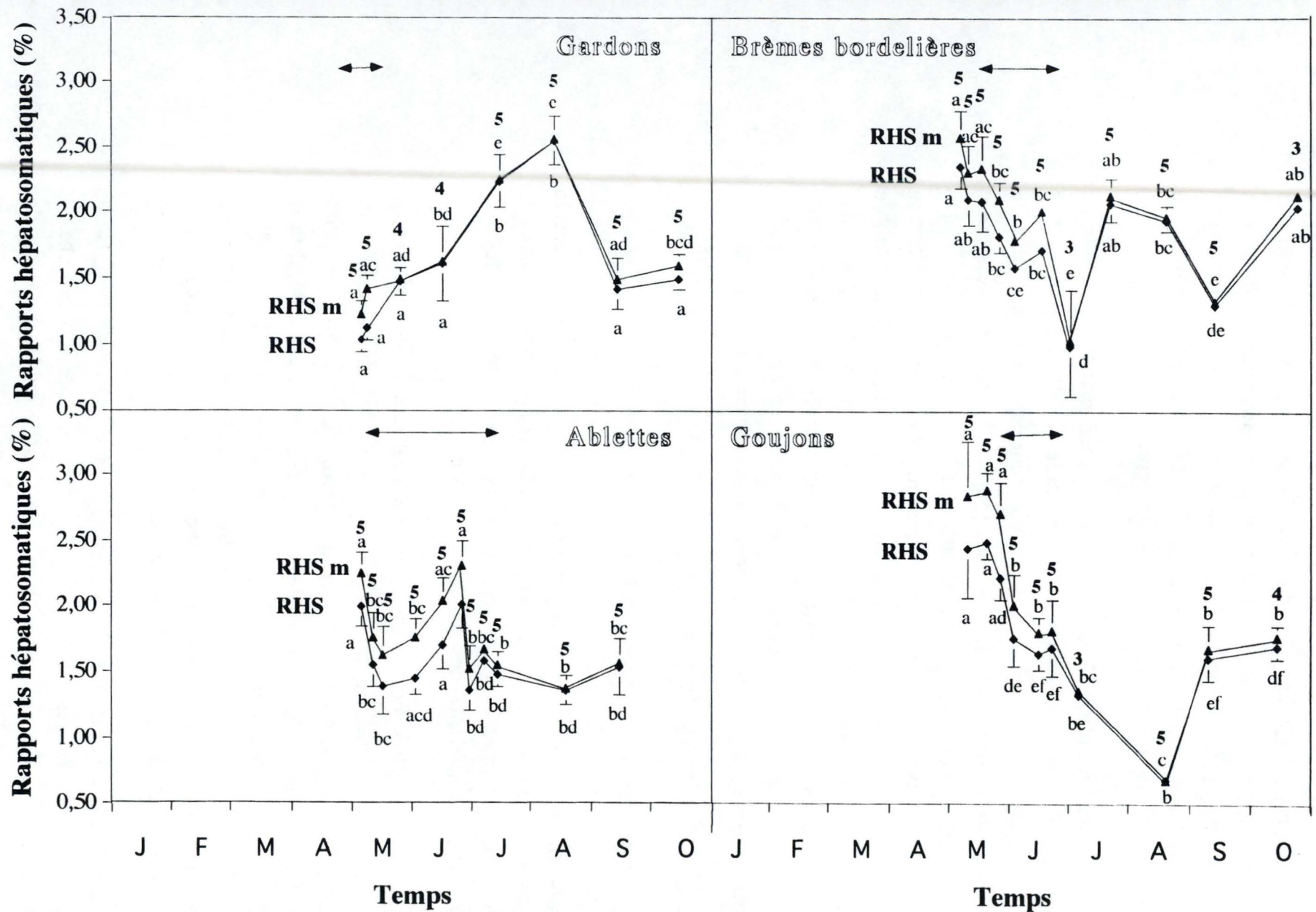


Figure 37 : Evolution simultanée du rapport hépatosomatique (RHS en % ♦) et du rapport hépatosomatique modifié (RHS_m en % ▲) en fonction du temps.

<----> = durée approximative de la période de ponte, les barres verticales = les erreurs standards

Les chiffres indiquent le nombre d'individus sur lequel la moyenne a été calculée. Les lettres sont les descripteurs des contrastes.

pu effectuer des contrastes sur K_1 (gardon, brème bordelière et ablette), nous constatons une augmentation significative des valeurs entre le premier prélèvement et celui précédant directement le début des pontes, excepté chez la brème bordelière où cette augmentation n'est pas significative. A cette augmentation fait immédiatement suite une diminution dès le début des pontes. Enfin, les valeurs augmentent significativement après les pontes.

1.3. Les rapports hépatosomatiques

La figure 37 présente l'évolution du RHS et RHS_m au cours du temps. Les chiffres correspondent au nombre d'individus par prélèvement. Les lettres sont utilisées comme descripteur des contrastes selon la méthode décrite précédemment. Nos observations ne débutent qu'en mai, suite à un problème de prélèvement du foie dans les échantillons précédents. Cet organe étant multilobé chez les Cyprinidés, nous avons constaté que nous ne prélevions pas l'entière du foie. Le calcul du RHS et du RHS_m se révélait donc incorrect.

Les différences les plus importantes entre le RHS et le RHS_m résultant de l'influence du poids des ovaires sur le calcul du RHS se rencontrent pendant la période de ponte. Ces différences s'atténuent au fur et à mesure qu'on se rapproche de la fin des pontes. Voici quelques chiffres illustrant ce phénomène :

chez le gardon : $RHS - RHS_m = 0,31\%$ le 8 mai et $0,02\%$ le 24 mai

chez la brème bordelière : $0,26\%$ le 16 mai et $0,04\%$ le 29 juin

chez l'ablette : $0,23\%$ le 11 mai et $0,07\%$ le 12 juillet

chez le goujon : $0,49\%$ le 26 mai et $0,14\%$ le 21 juin

On constate donc que l'écart entre ces deux paramètres varie de façon saisonnière.

L'ANOVA 1 a montré un effet significatif ($P < 0,01$) du temps sur le RHS et le RHS_m (Annexe 8). Voyons maintenant ce que nous indiquent les contrastes (Annexe 9). Excepté chez le gardon pour lequel nous ne disposons pas de valeur de RHS_m avant le début des pontes, nous constatons que, chez la brème bordelière, l'ablette et le goujon, une différence significative existe entre la valeur maximale enregistrée juste avant les pontes (respectivement 2,57, 2,25 et 2,84%) et la valeur obtenue à la fin des pontes (1,03, 1,54 et 1,82%).

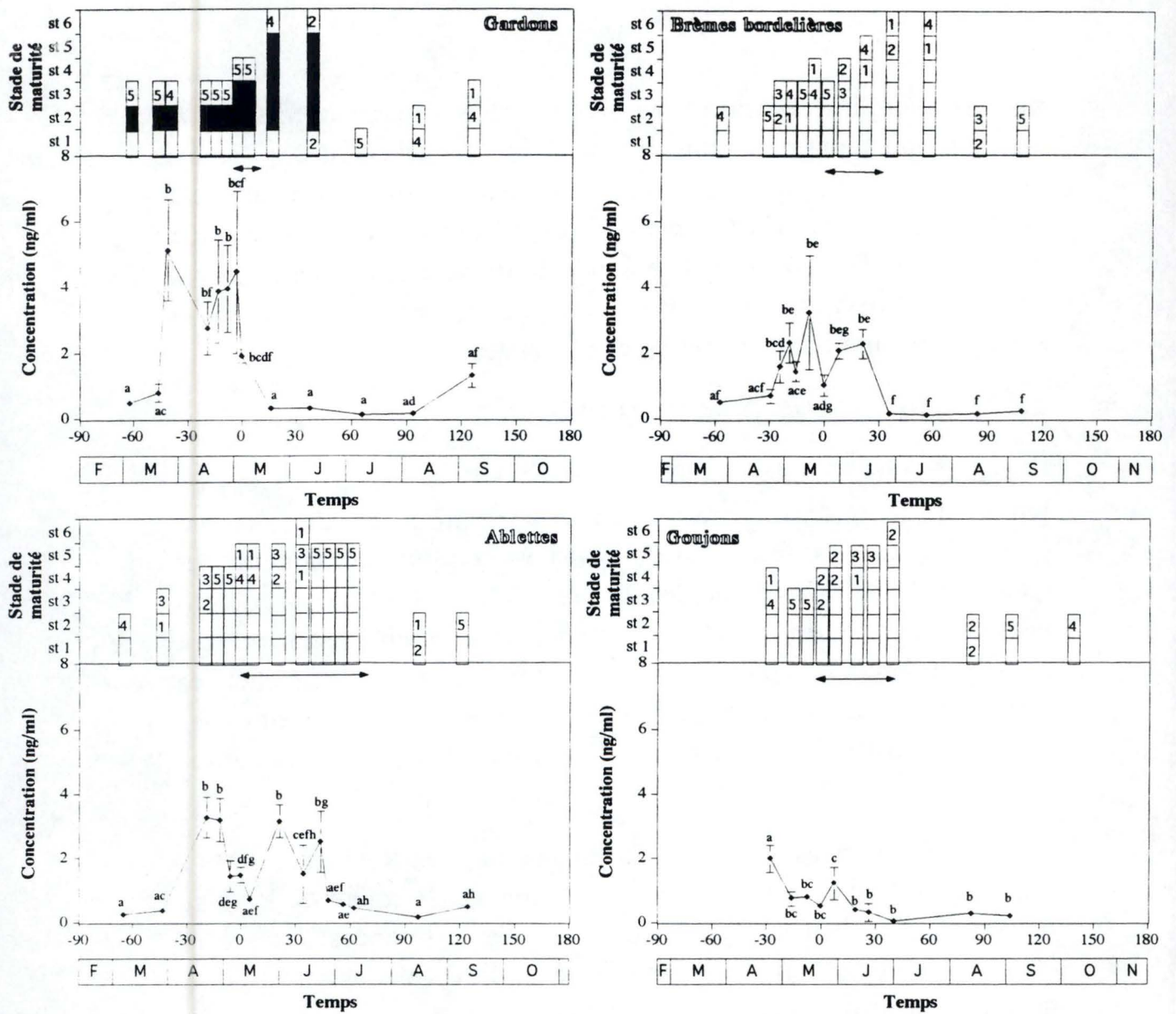


Figure 38 : Evolution de la 17β-oestradiol plasmatique (E2 en ng/ml) en fonction du temps.

Echelle de temps : par rapport au jour 0 (jour de début des pontes) et en mois. Les histogrammes montrent l'évolution des stades de maturité où plus précisément indiquent le stade le plus avancé rencontré au sein de l'ovaire. Chaque chiffre représente le nombre d'individus au stade considéré, la somme de ces chiffres dans une colonne donne le nombre d'individus sur lequel la moyenne a été calculée. Les lettres servent en tant que descripteur des contrastes.

<----> = durée approximative de la période de ponte
 les barres verticales = les erreurs standards

Nous observons chez toutes les espèces des variations très importantes du RHS_m au cours des pontes, témoins du rôle joué par le foie lors de la reproduction. Aux valeurs basses de RHS_m enregistrées à la fin des pontes fait suite une remontée brusque excepté chez l'ablette où le RHS_m se stabilise à la valeur atteinte et chez le goujon où la chute se prolonge jusqu'au mois d'août (0,74%) après quoi apparaît aussi une augmentation brusque. Chez le gardon et la brème bordelière, nous assistons entre le mois d'août et le mois de septembre à une nouvelle chute des RHS_m . Chez la brème bordelière contrairement au gardon, le RHS_m enregistre une nouvelle hausse entre septembre et octobre. Tout ceci indique qu'en dehors de la période de ponte, le foie n'est pas impliqué de la même manière dans les différents processus métaboliques.

2. Evolution temporelle de la 17β -oestradiol

Les graphes de la figure 38 présentent l'évolution de la 17β -oestradiol (E2) en fonction du temps. En abscisse, on trouve les jours s'étalant autour de la valeur 0 qui correspond à une estimation du premier jour de ponte (avec une marge de 1 à 2 jours). Cette échelle nous permet de comparer l'occurrence des pics de 17β -oestradiol pour les différentes espèces sur base d'un moment qui est le même pour toutes ces espèces, à savoir le jour 0. Sous cette abscisse, nous avons l'évolution du temps en termes mensuels. Les histogrammes surplombant les graphes indiquent l'évolution du stade de maturité le plus avancé chez chaque individu et la somme des chiffres d'une même colonne donne le nombre d'individus sur lequel la moyenne a été calculée.

A première vue, en observant ces différents graphes, nous pouvons constater le profil saisonnier des concentrations en E2 bien que chez le goujon les variations soient plus faibles. Sans entrer dans les détails, nous avons enregistré chez les quatre espèces les concentrations les plus élevées avant la période de ponte. Ces niveaux élevés se rencontrent chez les individus en vitellogenèse exogène. Nous pouvons remarquer qu'à l'approche des pontes et avec l'entrée en maturation d'ovocytes, les concentrations en E2 enregistrent une baisse. Chez les pondeurs multiples, pendant les pontes, nous rencontrons encore des concentrations élevées excepté chez le

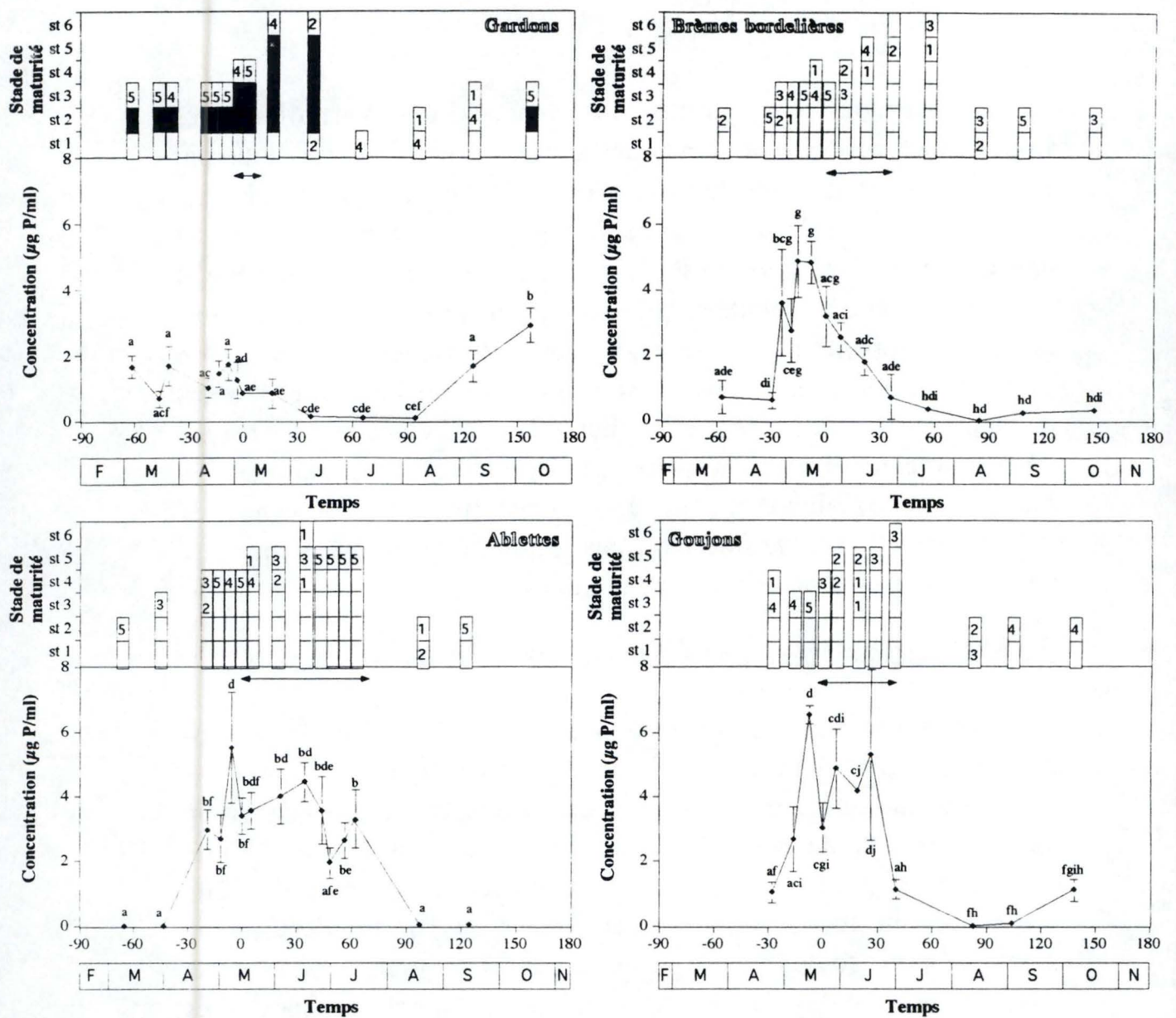


Figure 39 : Evolution du phosphore protéique plasmatique (PPP en µg/ml) en fonction du temps.

Echelle de temps : par rapport au jour 0 (jour de début des pontes) et en mois. Les histogrammes montrent l'évolution des stades de maturité où plus précisément indiquent le stade le plus avancé rencontré au sein de l'ovaire. Chaque chiffre représente le nombre d'individus au stade considéré, la somme de ces chiffres dans une colonne donne le nombre d'individus sur lequel la moyenne a été calculée. Les lettres servent en tant que descripteur des contrastes.

<----> = durée approximative de la période de ponte

les barres verticales = les erreurs standards

goujon. Chez les 4 espèces, après la ponte, les concentrations sont très basses et correspondent à des individus au repos (stades 6 et 1) ou en vitellogenèse endogène (stade 2).

L'effet du temps sur E2 est hautement significatif ($P < 0,01$) comme le montre l'ANOVA 1 (Annexe 10). Une transformation logarithmique des concentrations d'E2 s'est imposée pour homogénéiser les variances chez le gardon, la brème bordelière et l'ablette. Que nous indiquent les contrastes (Annexe 11) : chez le gardon, la concentration atteinte le 28 mars (5,28 ng/ml) est significativement différente de celles atteintes précédemment bien que ces poissons soient au même stade (vitellogenèse exogène). Les concentrations d'E2 restent élevées jusqu'à la fin des pontes (de 1,92 à 5,28 ng/ml) aussi bien chez des poissons en vitellogenèse exogène que chez des poissons en maturation. Une fois le ponte terminée, les teneurs d'E2 retombent à leur niveau de base (0,20 ng/ml). Dès septembre, nous pouvons observer une nouvelle augmentation du taux d'E2 correspondant à l'entrée d'ovocytes en vitellogenèse exogène. Chez les pondeurs multiples, hormis la baisse significative des concentrations d'E2 au jour 0, les contrastes ne nous apportent pas d'informations supplémentaires (par rapport à ce qui a été dit précédemment).

3. Evolution temporelle du phosphore protéique plasmatique

Les graphes de la figure 39 décrivant l'évolution du phosphore protéique plasmatique (PPP) en fonction du temps sont du même type que ceux de la figure précédente. L'évolution des stades de maturité chez les individus capturés est également indiquée.

Nous pouvons remarquer qu'en général, les erreurs standards (barres verticales) sont élevées pour des concentrations importantes. Les profils spécifiques sont très différents les uns des autres : chez le gardon, les valeurs ne semblent pas fluctuer beaucoup sauf à partir du mois d'août. Chez la brème bordelière, c'est une décroissance régulière pendant les pontes qui semble faire suite au pic précédant les pontes. Chez l'ablette et le goujon, les différentes concentrations demeurent élevées pendant toute la durée des pontes.

Puisque l'ANOVA 1 (Annexe 10) a montré l'effet significatif ($P < 0,05$) du temps, voyons ce que nous apporte l'analyse des contrastes (Annexe 12) et en même temps l'évolution des stades de maturité. Chez le gardon, la période précédant la ponte ne montre pas de différence significative entre les valeurs qui oscillent entre 0,65 et 1,72 $\mu\text{g/ml}$. Cette période correspond pourtant à des individus en vitellogenèse exogène (stade 3). Les valeurs les plus basses (0,12, 0,07 et 0,07 $\mu\text{g/ml}$ au mois de juin, juillet et août) correspondent à la période faisant directement suite aux pontes et impliquent des poissons au repos ou en vitellogenèse endogène (stades 1, 2 et 6). Nous pouvons voir que dès septembre apparaît le premier individu en vitellogenèse exogène et qu'en octobre tous le sont. A ce moment, la concentration en PPP atteint 2,90 $\mu\text{g/ml}$. Ces valeurs sont significativement différentes de celles enregistrées durant la période de repos. Chez la brème bordelière, nous remarquons que les deux valeurs les plus élevées (4,78 et 4,82 $\mu\text{g/ml}$) correspondant à des individus en vitellogenèse exogène et enregistrées environ 1 à 2 semaines avant le jour 0 sont significativement différentes de celles enregistrées le 28 mars et le 25 avril (poissons en vitellogenèse exogène) ainsi que celles enregistrées après les pontes quand les ovaires sont au repos. Le début de la période de ponte marque une diminution progressive des concentrations. Chez l'ablette, nous pouvons constater un pic 6 jours avant le jour 0 (3,41 $\mu\text{g/ml}$ le 5 mai) correspondant à des individus au stade maturationnel (stade 4) puis les valeurs demeurent à un niveau élevé (de 1,95 à 4,4 $\mu\text{g/ml}$) pendant les pontes. La plupart de ces valeurs sont significativement différentes de celles enregistrées au mois de mars (vitellogenèse endogène) ainsi que celle enregistrées après les pontes (stades 1 et 2). Chez le goujon, un pic de PPP a lieu 7 jours avant le début des pontes (le 19 mai) et atteint une valeur de 6,58 $\mu\text{g/ml}$. Ce pic correspond à des individus en vitellogenèse exogène. Ensuite, les valeurs fluctuent mais de manière non significative pendant toute la période de pontes entre 3,04 et 5,31 $\mu\text{g/ml}$. Comme chez l'ablette, ces valeurs sont significativement différentes de celles enregistrées le 28 avril et la 10 mai (bien que la plupart des poissons soient en vitellogenèse exogène) et des valeurs observées après les pontes (stades 1 et 2). Chez toutes les espèces, la période succédant à la ponte, période pendant laquelle les ovaires sont au mieux en vitellogenèse endogène (stade 2), offre des

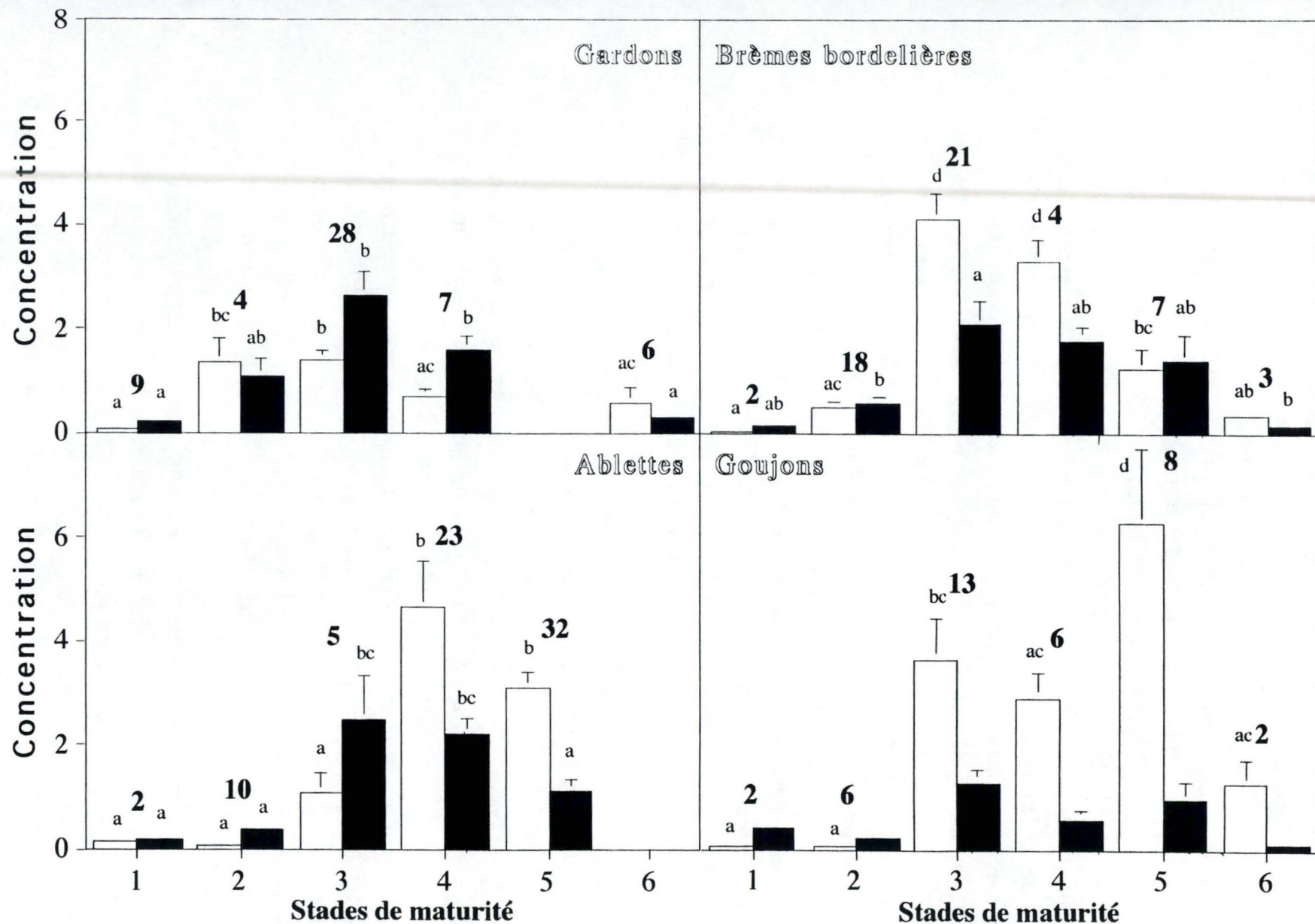


Figure 40 : Evolution du phosphore protéique plasmatique (µg/ml en blanc) et de la 17β-oestradiol plasmatique (E2 en ng/ml en noir) en fonction des stades de maturité.

1 = protoplasmique, 2 = vitellogenèse endogène, 3 = vitellogenèse exogène, 4 = maturation, 5 = ponte, 6 = fin de ponte. Chaque chiffre représente le nombre d'individus au stade considéré sur lequel la moyenne a été calculée. Les lettres servent en tant que descripteur des contrastes. Les barres verticales = les erreurs standards

concentrations en PPP proches de 0. Cependant chez la brème bordelière et le goujon, nous assistons à une légère augmentation (non significative) des concentrations en PPP bien que les ovocytes ne soient pas en vitellogenèse exogène. Ceci exprime peut-être une limite de la méthode de dosage qui aurait détecté du phosphore non associé à la vitellogénine.

4. Evolution du phosphore protéique plasmatique et de la 17 β -oestradiol en fonction des stades de maturité

Les graphes de la figure 40 représentent l'évolution du phosphore protéique plasmatique (PPP) et de la 17 β -oestradiol (E2) en fonction des stades de maturité. Les nombres correspondent à la quantité de poissons considérés. Les lettres décrivent les contrastes.

Une première constatation est que les niveaux maximum atteints par le PPP chez le gardon (1,63 μ g/ml) sont 2 à 4 fois moins élevés que chez la brème bordelière, l'ablette et le goujon (respectivement 4,13; 4,62; 6,26 μ g/ml). Par contre, les concentrations d'E2 sont du même ordre de grandeur, excepté pour le goujon où celles-ci sont un peu inférieures (2,64 ng/ml chez le gardon; 2,11 ng/ml chez la brème bordelière; 2,43 ng/ml chez l'ablette et 1,23 ng/ml chez le goujon). A noter, l'absence de valeurs pour le stade 6 chez l'ablette, stade que nous n'avons observé qu'une seule fois. Nous n'avons donc pas tenu compte des valeurs (6,23 μ g/ml pour PPP et E2 non dosée) que nous avons jugées non représentatives.

Une autre constatation est que chez toutes les espèces la concentration la plus élevée en E2 s'observent lorsque les poissons sont en vitellogenèse exogène (stade 3). Une concentration importante se maintient également durant la maturation (stade 4) chez toutes les espèces et durant toute la période de ponte (stade 5) chez les pondeurs multiples.

Enfin, les profils d'évolution du PPP en fonction du stade de maturité sont très différents d'une espèce à l'autre. Chez le gardon, le pic de PPP est atteint durant la vitellogenèse (endogène et exogène), chez la brème bordelière, il survient pendant la

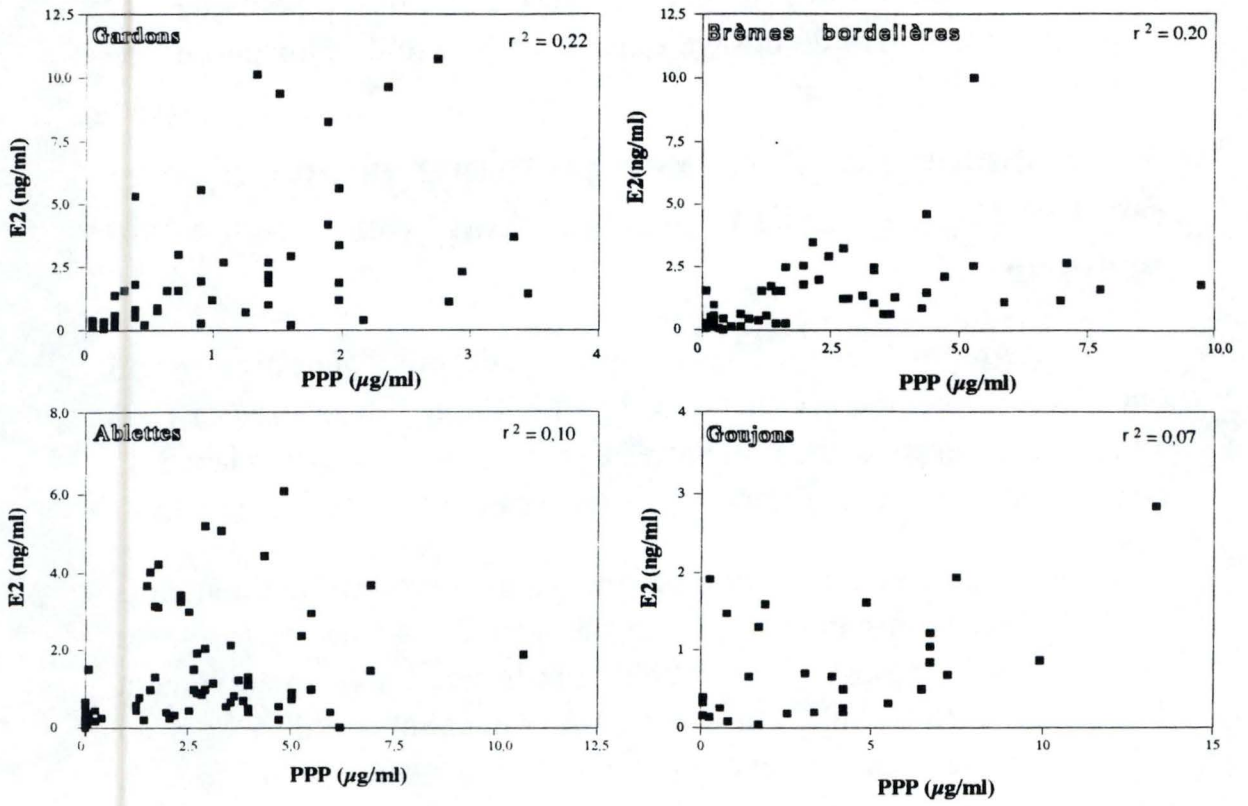


Figure 41 : Relation arithmétique entre le phosphore protéique plasmatique (PPP) et la 17β-oestradiol plasmatique (E2) chez les différentes espèces étudiées.

r^2 = coefficient de corrélation et ■ = valeur individuelle

vitellogenèse exogène alors que nous l'observons au moment de la maturation chez l'ablette et au cours des pontes chez le goujon.

L'ANOVA 1 a montré, mis à part chez le goujon pour E2, un effet hautement significatif ($P < 0,01$) du stade sur PPP et E2 (Annexe 13). Une transformation logarithmique a été opérée afin d'homogénéiser les variances des valeurs d'E2 chez le gardon et des valeurs de PPP chez la brème bordelière. Voyons ce que nous révèle l'analyse des contrastes (Annexe 14). Chez le gardon, nous assistons à une augmentation progressive des concentrations de PPP à partir du stade 1 et jusqu'au stade 3 (de 0,08 à 1,63 $\mu\text{g/ml}$). Ensuite, elles chutent au stade 4 et 6. Notons que le PPP est encore bien présent dans le plasma quand les gardons ont fini de pondre. Du stade 1 au stade 3, l'E2 suit une évolution similaire. Par contre, nous n'enregistrons pas de différence significative entre le stade 3 et 4. Chez la brème bordelière, nous assistons à une hausse des valeurs de PPP du stade 1 au stade 3 (de 0,03 à 4,13 $\mu\text{g/ml}$). Cependant, ici, la transition entre le stade 2 et 3 est brusque de 0,51 à 4,13 $\mu\text{g/ml}$. La diminution des valeurs quant à elle est tout à fait progressive et l'on atteint au stade 6 des niveaux peu élevés (0,36 $\mu\text{g/ml}$). En ce qui concerne l'E2, le profil général est le même (toute proportion gardée) excepté lors de la transition stade 4-stade 5. En effet, dans le cas de l'E2 la différence n'est pas significative. Cependant malgré le maintien des concentrations d'E2 à un niveau comparable à celles du stade précédent, nous observons une chute significative du PPP. Chez l'ablette, le pic de PPP est atteint brusquement au stade 4 (4,62 $\mu\text{g/ml}$). Nous assistons ensuite à une baisse non significative au stade 5 (3,07 $\mu\text{g/ml}$). Le pic d'E2 est atteint au stade 3 mais n'est pas significativement différent de la valeur observée au stade 4. Nous remarquons que malgré la diminution significative d'E2 entre le stade 4 et le stade 5, les concentrations en PPP restent élevées. Chez le goujon, nous remarquons une augmentation relativement abrupte des concentrations en PPP avec un pic atteint au stade 5 (6,26 $\mu\text{g/ml}$) puis une diminution au stade 6 (1,26 $\mu\text{g/ml}$). Nous constatons que les faibles concentrations d'E2 n'empêchent pas le PPP d'augmenter.

Comme le montre la figure 41, aucune relation linéaire n'a pu être établie entre les taux individuels de PPP et d'E2. Les coefficients de corrélation mesurant l'intensité de cette relation étant

Tableau 6 : Evolution du glycogène, des phospholipides et des glycérides en fonction des stades de maturité pour les 4 espèces considérées.

0= absent, *= très peu, **= peu, ***= présent, ****= abondant, *****= très abondant.

Les chiffres entre parenthèse représente le nombre de coupes sur lesquelles les observations ont été effectuées.

Espèce	Stade de maturité	Glycogène	Phospholipides	Glycérides
Gardon	1	*** (9)	*** (8)	*** (9)
	2	**** (4)	*** (5)	* (5)
	3	* (4)	*** (4)	0 (4)
	4	* (8)	** (8)	0 (8)
	5			
	6	** (6)	**** (6)	0 (6)
Brème bordelière	1	**** (2)	** (1)	** (1)
	2	*** (6)	*** (7)	** (8)
	3	** (21)	*** (21)	0 (21)
	4	** (4)	*** (4)	0 (4)
	5	** (7)	** (7)	0 (7)
	6	**** (4)	** (4)	*** (4)
Ablette	1	*** (1)	0 (1)	***** (1)
	2	*** (6)	** (6)	*** (5)
	3			
	4	* (13)	* (13)	0 (13)
	5	* (34)	** (34)	* (34)
	6	0 (1)	*** (1)	0 (1)
Goujon	1	*** (3)	** (3)	** (3)
	2	**** (5)	* (7)	** (7)
	3	* (15)	* (15)	0 (16)
	4	* (7)	0 (7)	0 (7)
	5	0 (12)	* (12)	0 (12)
	6	** (3)	** (3)	* (3)

de 0,22 chez le gardon, de 0,20 chez la brème bordelière, de 0,10 chez l'ablette et de 0,07 chez le goujon.

5. Evolution histologique du foie

Les résultats présentés dans cette partie sont uniquement le fruit de l'observation des différentes coupes et de comparaisons entre-elles, les appréciations employées (absent, très peu, peu, présent, abondant) se référant toujours à une coupe ayant subi la même coloration. Le caractère qualitatif et descriptif de ces résultats ne doit pas être perdu de vue. Les résultats individuels sont présentés pour chaque espèce et pour chaque coloration en annexe 3.

Signalons de suite que ceux obtenus par la coloration Brome Soudan Noir B n'ont pas été pris en considération. En effet, cette coloration avait pour but de mettre toutes les classes de lipides en évidence. On constate que dans plusieurs cas et bien que les coupes soient sériées, il y a moins de lipides totaux que de phospholipides et glycérides révélés par le sulfate Bleu de Nil. Ce problème est peut-être dû à des pertes de lipides au cours du traitement des coupes.

Le tableau 6 présente pour chaque espèce et pour chaque stade de maturité l'évolution du glycogène, des phospholipides et des glycérides. Quelque soit l'espèce considérée, l'évolution générale de ces constituants est fort semblable. A l'approche des pontes (stades 3 et 4) et pendant celles-ci (stade 5), le glycogène, les phospholipides et les glycérides sont à leurs niveaux les plus faibles. La période correspondant à la fin de ponte (stade 6) est associée à une réaccumulation de ces constituants.

5.1. Evolution du glycogène

Chez le gardon, la période des pontes est caractérisée par de faibles quantités de glycogène. Celui-ci enregistre une hausse et est de nouveau abondant alors que les poissons sont en phase de repos sexuel (juillet-août) et en vitellogenèse endogène (septembre) (Figure 42).

Chez la brème bordelière, la vitellogenèse exogène, la maturation et la période des pontes sont marquées par des quantités fluctuantes de glycogène, évolution assez régulières d'ailleurs.

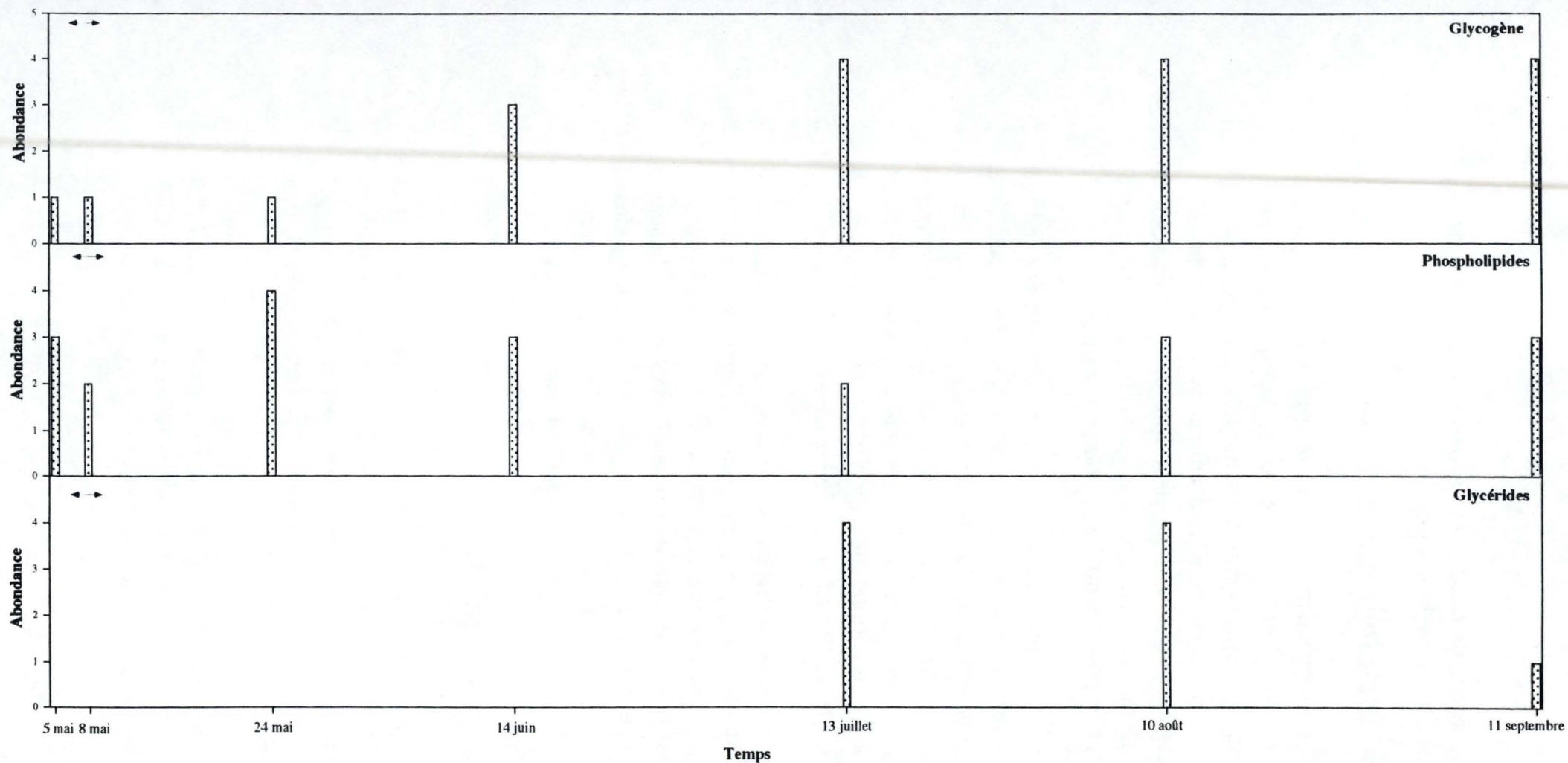


Figure 42 : Evolution du glycogène, des phospholipides et des glycérides au cours du temps chez les femelles de gardon.

<----> = durée approximative de la période de ponte

0 = absent 1 = très peu 2 = peu 3 = présent 4 = abondant 5 = très abondant

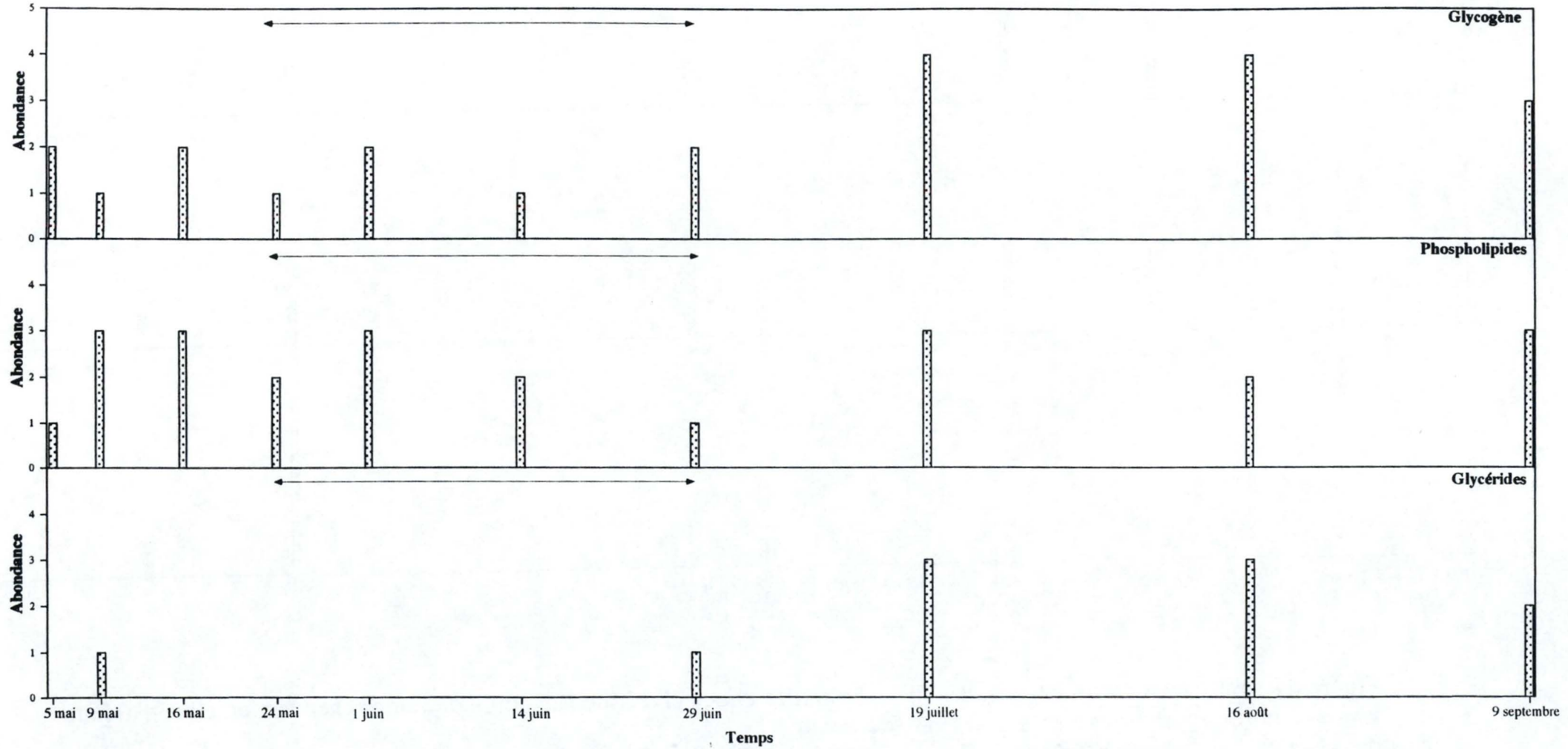


Figure 43 : Evolution du glycogène, des phospholipides et des glycérides au cours du temps chez les femelles de brème bordelière.

<----> = durée approximative de la période de ponte

0 = absent 1 = très peu 2 = peu 3 = présent 4 = abondant 5 = très abondant

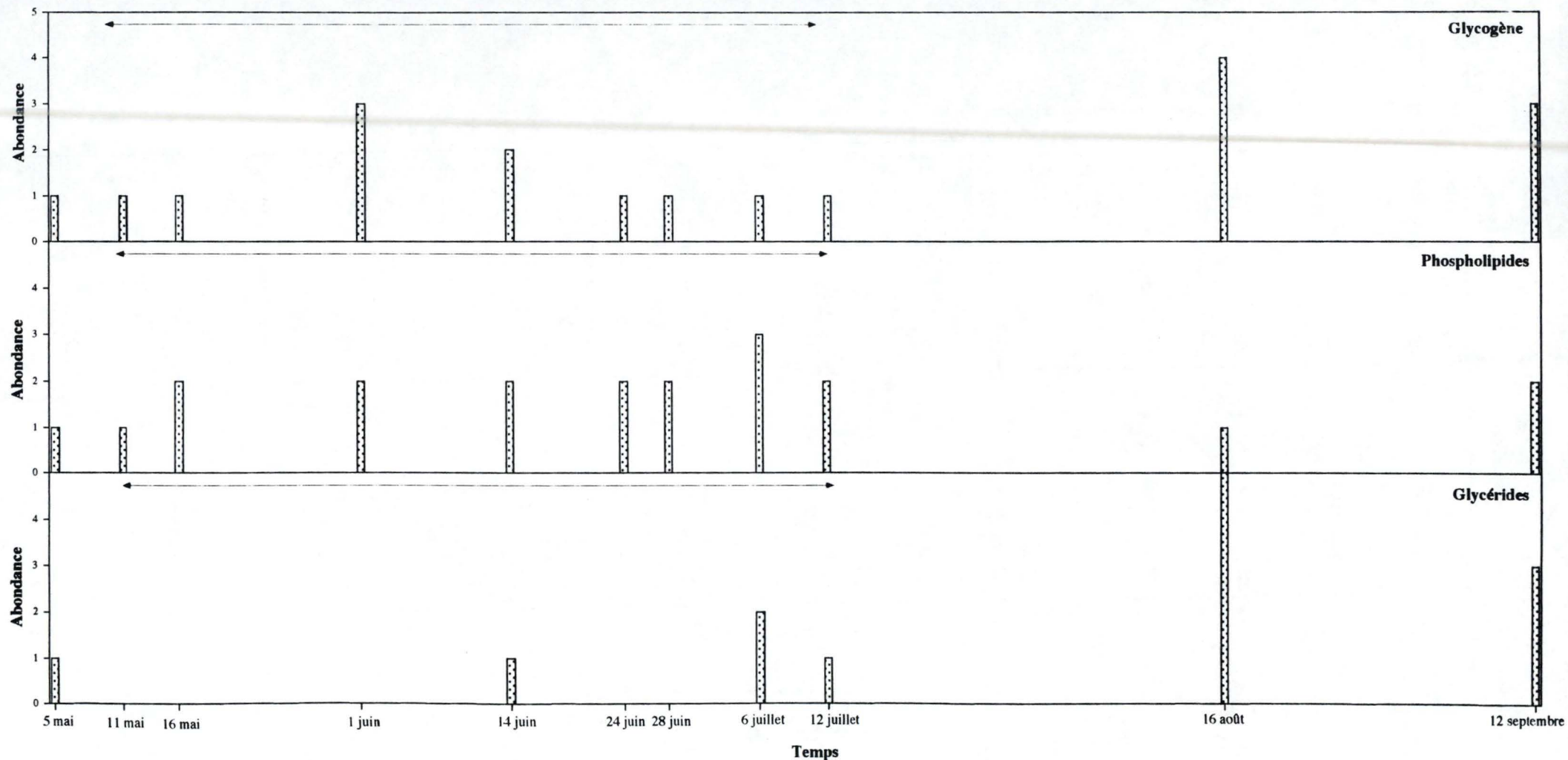


Figure 44 : Evolution du glycogène, des phospholipides et des glycérides au cours du temps chez les femelles d'ablette.

<----> = durée approximative de la période de ponte

0 = absent 1 = très peu 2 = peu 3 = présent 4 = abondant 5 = très abondant

Les quantités oscillant de très peu à peu. Un peu moins d'un mois après la fin des pontes, le glycogène est abondant et cet état se maintient pendant le mois d'août. En septembre, ces valeurs retombent légèrement (Figure 43).

La période précédant les pontes chez l'ablette est caractérisée par des niveaux bas. Le premier juin, pendant la première moitié de la période des pontes, nous assistons à une augmentation brève suivie par un retour à des niveaux semblables à ceux observés avant et au début des pontes. La fin de cette période marque le retour à des niveaux abondants de glycogène (16 août), niveaux diminuant légèrement en septembre (Figure 44).

Les réserves de glycogène semblent être mises à rude épreuve chez le goujon puisque, déjà faibles avant les pontes, celles-ci tombent à 0 pendant les pontes. Comme pour les autres espèces, la fin de l'activité sexuelle (juillet) correspond à un retour à des quantités plus élevées, augmentation progressive jusqu'en septembre (Figure 45).

5.2. Evolution des phospholipides

Au cours de notre travail, les quantités les plus faibles furent enregistrées au moment des pontes (8 mai) ainsi que le 13 juillet alors que tous les individus étaient au stade protoplasmique. Le reste du temps, les valeurs étaient élevées (présent et abondant le 24 mai) (Figure 42).

Chez la brème bordelière, nous observons une augmentation rapide du 5 au 9 mai des quantités de phospholipides. Ensuite a lieu une décroissance progressive des valeurs pendant les pontes avant que celles-ci ne remontent quelque peu au cours des mois suivant (juillet-août-septembre). Il est intéressant de constater que le niveau enregistré en août, alors que trois individus étaient en vitellogenèse endogène, est moins élevé que celui de juillet et septembre, moments auxquels les individus étaient soit juste à la fin des pontes (stade 6) ou au stade protoplasmique (stade 1) (Figure 43).

Chez l'ablette, mis à part les valeurs plus faibles enregistrées juste avant les pontes, les niveaux restent peu élevés mais constants

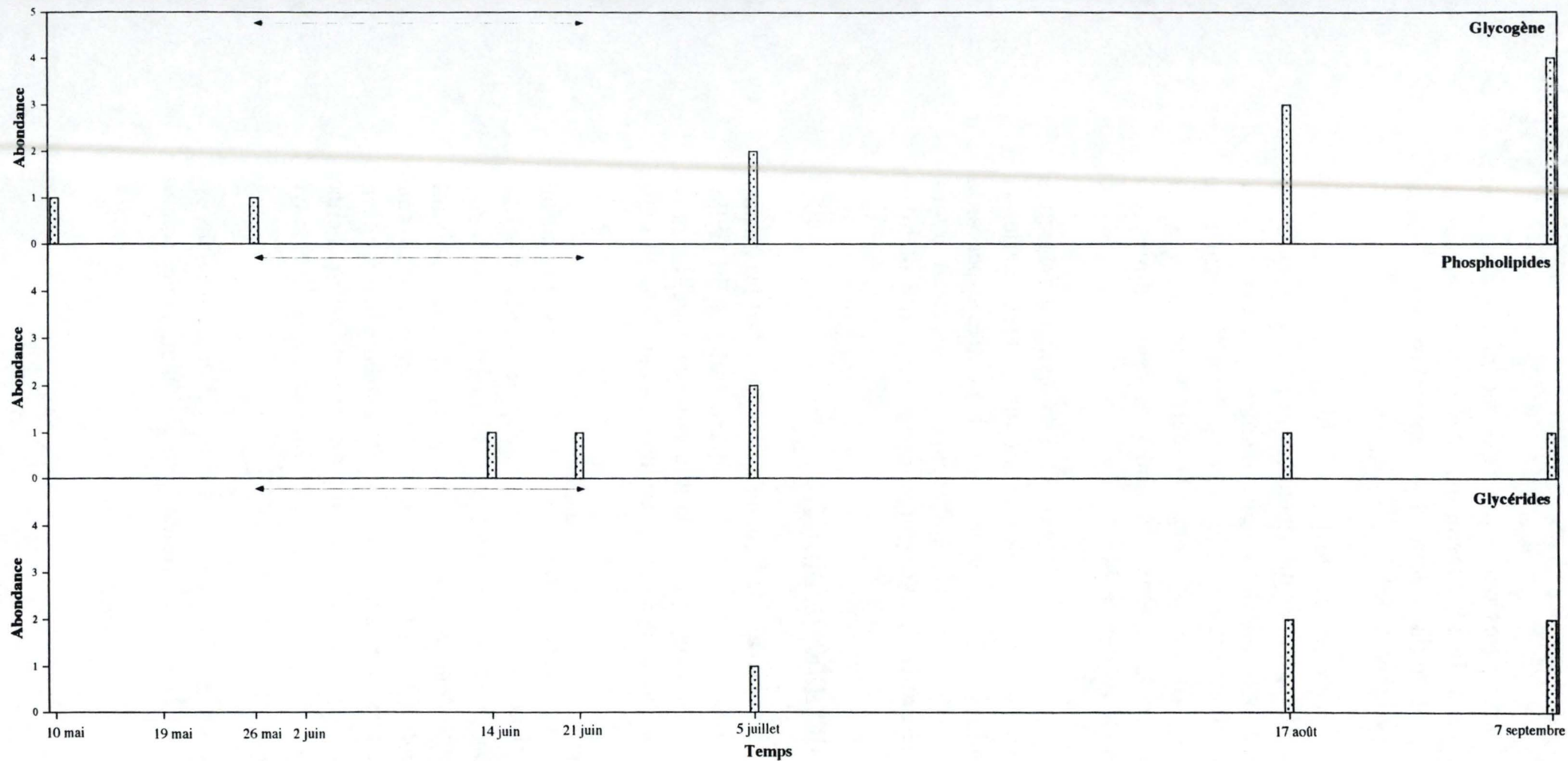


Figure 45 : Evolution du glycogène, des phospholipides et des glycérides au cours du temps chez les femelles de goujon.

<----> = durée approximative de la période de ponte

0 = absent 1 = très peu 2 = peu 3 = présent 4 = abondant 5 = très abondant

pendant les pontes. La fin de cette période ne coïncide pas avec une augmentation des quantités (Figure 44).

Chez le goujon, les phospholipides apparaissent seulement au milieu de la période de ponte et à partir de ce moment, les niveaux restent constants et très bas (Figure 45).

5.3. Evolution des glycérides

Quelque soit l'espèce considérée, on remarque tout de suite les quantités très faibles voire nulles à partir de la période précédant les pontes et tout au long des pontes.

Chez le gardon, il faut attendre près de deux mois après la ponte (juillet) pour avoir des glycérides en abondance. Cet état se retrouve de nouveau en août mais dès septembre, on retombe à des niveaux très bas alors qu'on observe les premiers individus en vitellogenèse exogène (Figure 42).

Chez la brème bordelière, moins d'un mois après la fin des pontes, le foie a retrouvé une quantité de glycérides un peu plus importante de même qu'en août. En septembre, nous assistons comme chez le gardon à une nouvelle chute des glycérides chez des individus au stade protoplasmique (Figure 43).

Le cas de l'ablette est tout à fait similaire à ce que nous avons rencontré chez la brème bordelière : augmentation des glycérides un mois après la fin des pontes (août) et diminution en septembre (Figure 44).

Chez le goujon, après les pontes, bien que nous assistions à une augmentation des glycérides, ceux-ci restent à des niveaux très faibles comparativement à ce que l'on observe chez les autres espèces (Figure 45).

6. Evolution cytologique du foie

Les observations réalisées ont permis de mettre en évidence les modifications des hépatocytes bien marquées au cours des différents stades de maturité comme nous allons le voir (Planches 3, 4 et 5).

6.1. La vitellogenèse endogène

Au cours de ce stade, le réticulum endoplasmique rugueux (RER) n'est pas encore bien développé bien que chez le gardon, il soit un peu plus présent que chez les autres espèces. Les noyaux ont une forme arrondie et présentent un nucléole bien visible. Les mitochondries sont nombreuses et petites. Elles possèdent un aspect intérieur relativement dense. Les inclusions lipidiques sont nombreuses et associées avec de grandes plages de glycogène.

6.2. La vitellogenèse exogène

Ce stade se caractérise par un développement important du RER. Celui-ci prend de plus une configuration très ordonnée. Les noyaux gardent le même aspect qu'au cours du stade précédent. Les mitochondries sont plus volumineuses et certaines contiennent des membranes arrangées de manière concentrique et dense. Le glycogène a pratiquement disparu et les inclusions lipidiques quand elles sont présentes sont presque vidées de leur contenu.

6.3. La maturation

Ici deux aspects différents ont été observés selon qu'on se situe chez le gardon (pondeur unique) ou chez les pondeurs multiples.

Chez le premier, le RER a perdu son aspect bien ordonné et apparaît très dilaté. Les mitochondries sont toujours volumineuses, certaines présentent un début de dégénérescence. Le glycogène est absent de même que les lipides. Des corps myéloïdes sont également observés. Chez les pondeurs multiples, le RER est toujours très développé ce qui les différencie du gardon car le reste présente un aspect tout à fait semblable. Notons encore l'association très étroite du RER avec les mitochondries suggérant une coopération intense.

6.3. La préparation à une nouvelle ponte

Ce stade, comme nous l'avons déjà dit ne concerne pas le gardon. Bien que l'aspect général ressemble à celui observé pendant la maturation, nous pouvons toutefois noter que par endroit, le RER perd son arrangement bien régulier. Pour le reste : mitochondries, lipides, glycogène, nous n'avons pas observé de changement. On peut

également observer quelques corps myéloïdes. Chez la brème bordelière, cet aspect désorganisé du RER est beaucoup plus avancé et ressemble à celui observé chez le gardon pendant la maturation.

6.4. La postponte

Ce stade se caractérise par de très faibles quantité de RER. Les noyaux ont repris un aspect plus allongé. Les mitochondries possèdent de nouveau un aspect semblable à celui observé en vitellogenèse endogène à savoir : petites et d'aspect dense. Le glycogène est de nouveau présent au contraire des inclusions lipidiques qui mis à part chez la brème bordelière ne sont pas encore abondantes.

Planche 3 : Evolution cytologique des hépatocytes de gardon

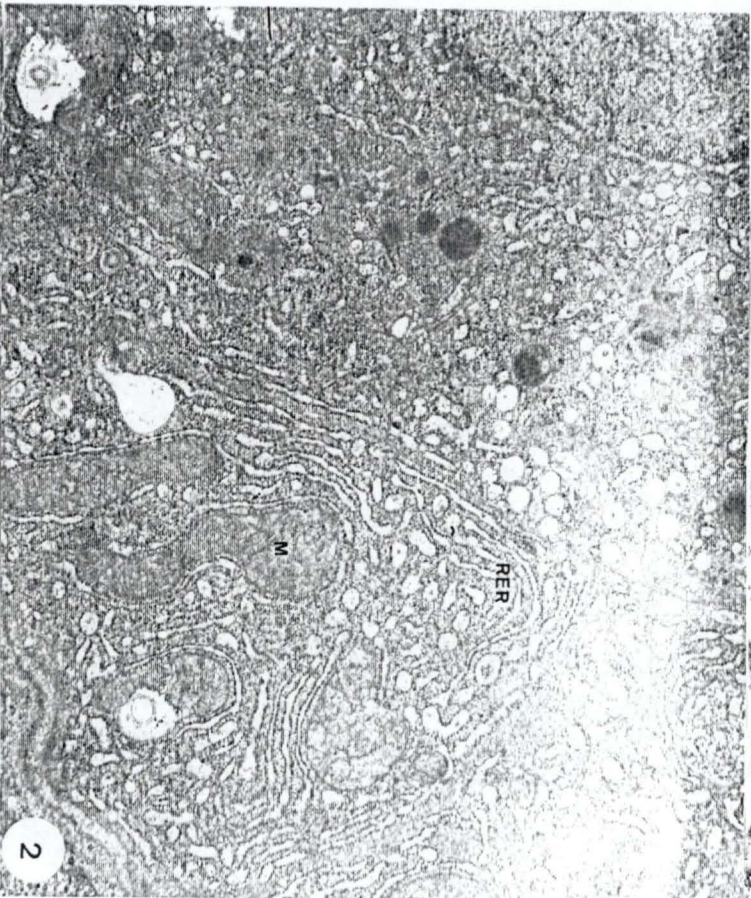
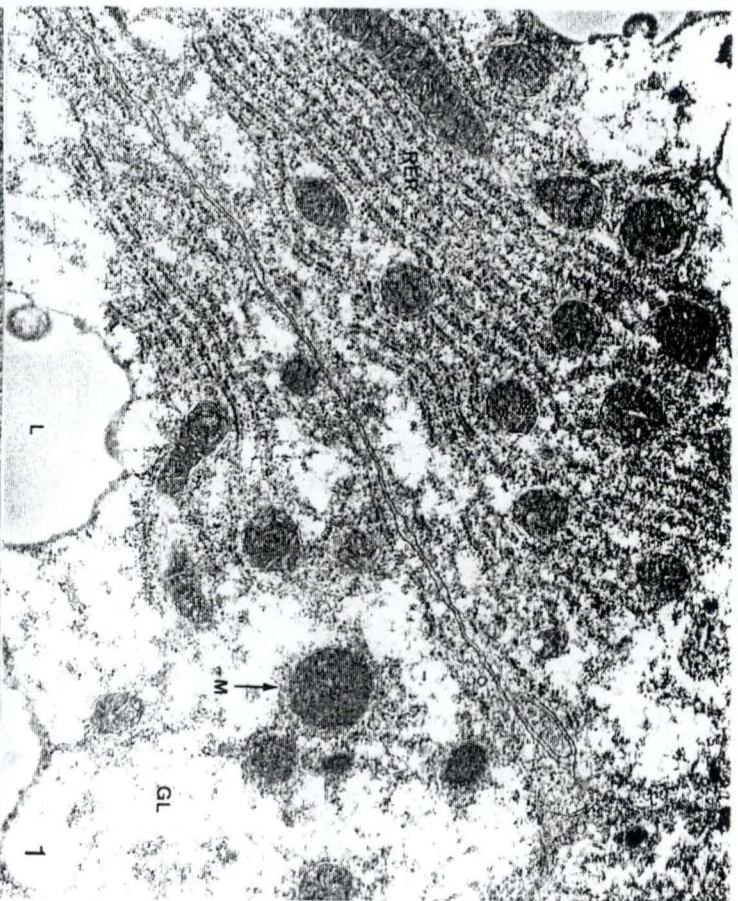
1. Chez un poisson en vitellogenèse endogène (grossissement 7200x)
2. Chez un poisson en maturation (grossissement 10000x)
3. Chez un poisson en postponte (grossissement 26000x)

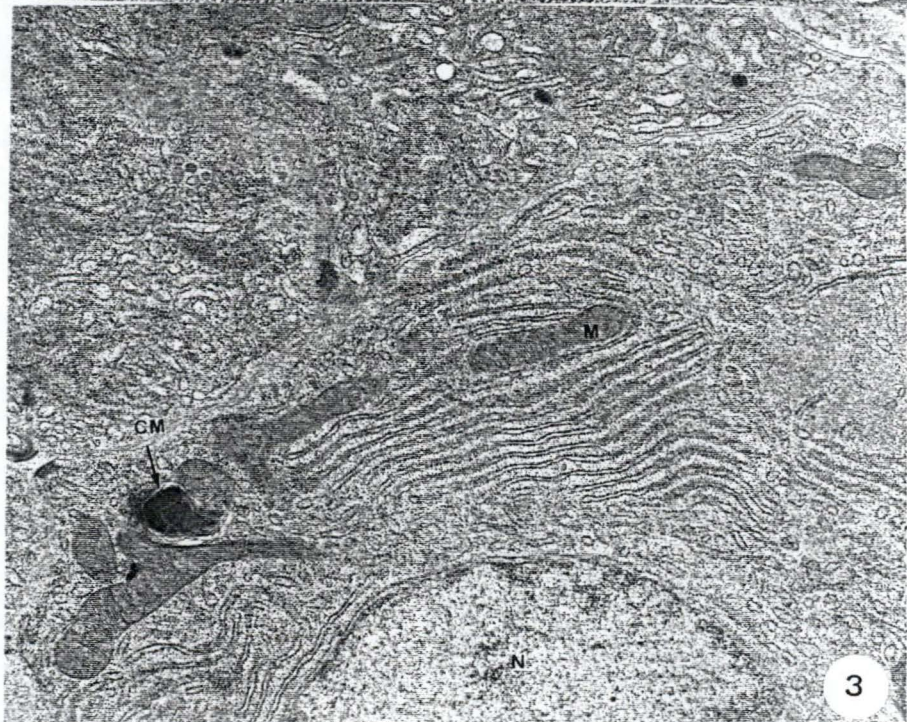
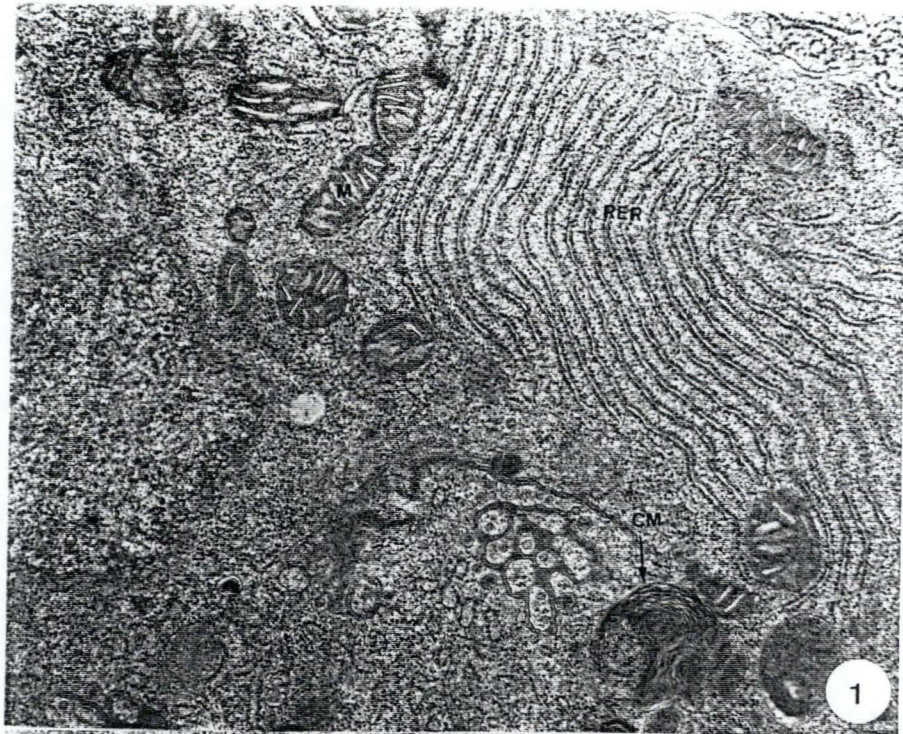
RER : réticulum endoplasmique rugueux, M : mitochondrie, L : lipides,
GL : glycogène, N : noyau

Planche 4 (page 60) : Aspect des hépatocytes chez les pondeurs multiples à différents stades de maturité

1. Vitellogenèse exogène chez le goujon (grossissement 4500x)
2. Maturation chez l'ablette (grossissement 15000x)
3. Pendant les pontes chez le goujon (grossissement 3300x)

RER : réticulum endoplasmique rugueux, M : mitochondrie, CM : corps myéloïde, N : noyau





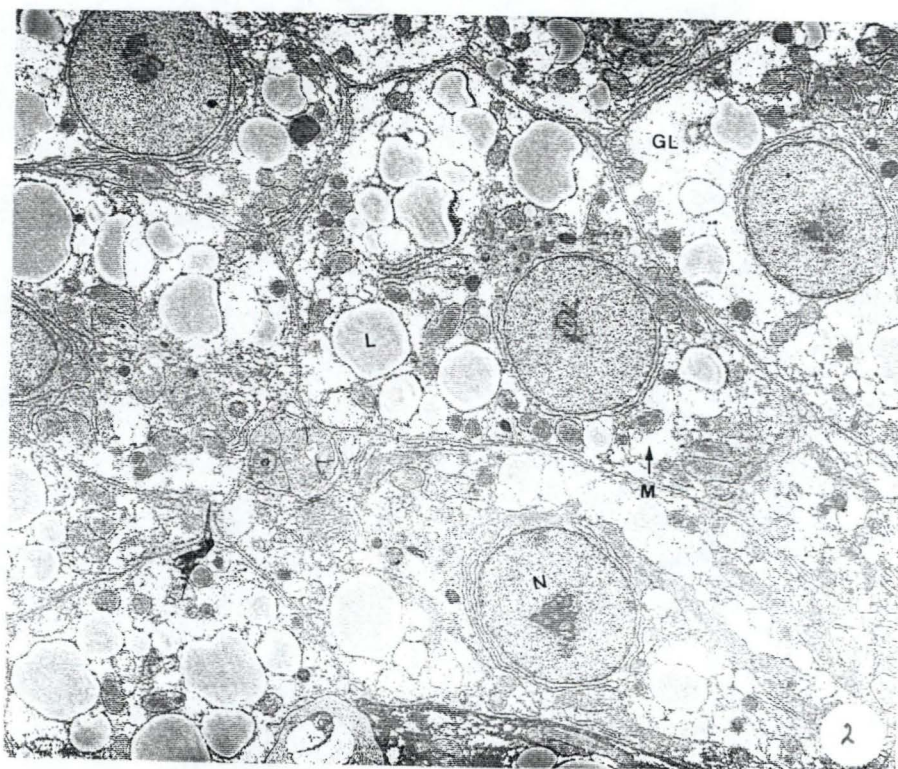
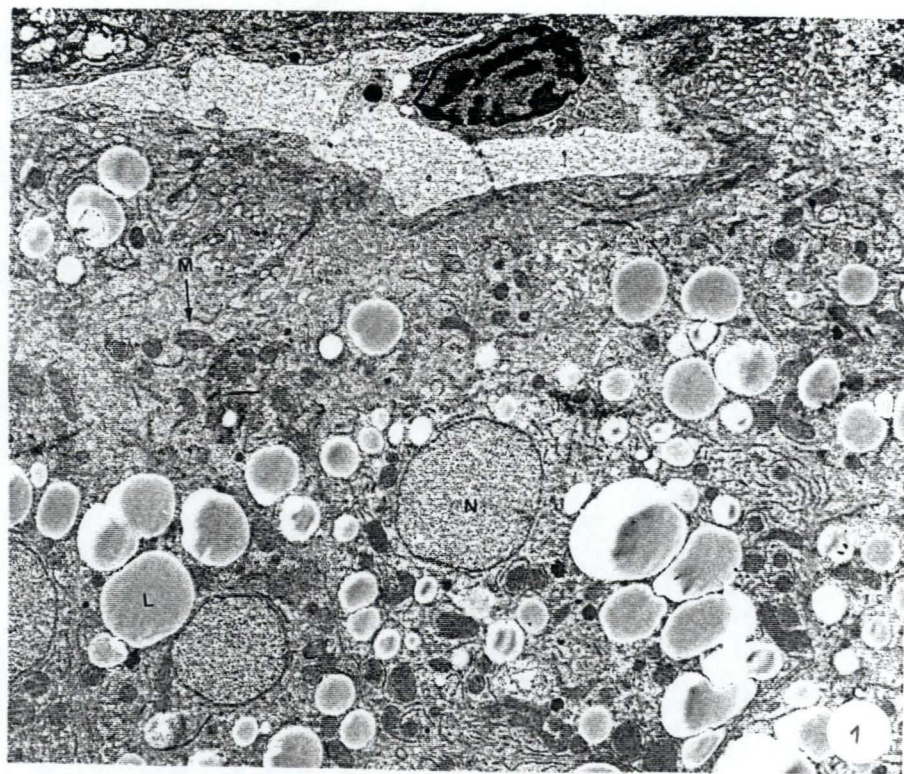


Planche 5 : Aspect des hépatocytes chez les pondeurs multiples à différents stades de maturité

1. Postovule chez la brème bordelière (grossissement 1000x)
 2. Vitellogénèse endogène chez l'ablette (grossissement 1000x)
- M : mitochondrie, L : lipides, GL : glycogène, N : noyau

QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION

Notre but étant de comparer la dynamique de la vitellogenèse chez les espèces présentant des stratégies de pontes différentes (pondeur unique et pondeur multiple), notre discussion s'articulera autour de cette différence. La vitellogenèse étant un phénomène faisant interagir de nombreux paramètres (variations du phosphore protéique plasmatique et de la 17β -oestradiol, rapports gonadosomatique et hépatosomatique, modifications hépatiques), nous avons envisagé ceux-ci de manière globale afin de faciliter la mise en évidence de relations les reliant les uns aux autres.

1. Considérations sur l'étalement du cycle sexuel

Comme le signalent Delahunty et De Vlaming (1980), le rapport gonadosomatique (RGS) est un indicateur du développement gonadal : son augmentation au cours des mois précédant les pontes traduit l'accumulation de vitellus au sein des ovocytes et la croissance de ceux-ci. La diminution du RGS est due à l'expulsion des ovocytes au cours des pontes.

Déjà à ce niveau, nous constatons des différences entre le gardon et les trois pondeurs multiples. Chez le gardon, en effet, la chute du RGS est brusque puisque cette espèce expulse en une fois tous les ovocytes arrivés à maturité. Au contraire, les trois autres espèces pondent au fur et à mesure de l'arrivée à maturité des vagues successives d'ovocytes. En outre, le RGS maximal chez le gardon est plus élevé que chez les pondeurs multiples car à ce moment, tous les ovocytes devant être pondus sont prêts, contrairement aux trois autres espèces où la première population d'ovocytes devant être pondus ne représente qu'une partie de ceux qui seront émis au cours des pontes.

Chez le gardon, la croissance du RGS débute très tôt (en août) et de manière nette (en accord avec Mattheeuws et al., 1981) après une période de repos s'étalant de mai à août. Cette évolution correspond à une augmentation des concentrations de 17β -oestradiol

(E2) et de phosphore protéique plasmatique (PPP) : les ovocytes entrent donc en vitellogenèse exogène provoquant une augmentation, du RGS. La faible différence entre la valeur du RGS observée en octobre et celle du mois de mars témoigne d'une croissance gonadale réduite pendant les mois d'hiver. Mattheeuws et al. (1981) parlent même d'une diminution possible du RGS pendant cette période. Chez les pondeurs multiples, il faut attendre la fin de l'hiver pour observer les premiers individus en vitellogenèse exogène. Ce fait traduit bien le caractère tardif et rapide de la croissance ovocytaire chez ces espèces. L'augmentation du RGS observée chez la brème bordelière, l'ablette et le goujon au début de l'automne, n'est donc pas à mettre en relation avec l'entrée en vitellogenèse exogène des ovocytes puisque nous observons au mieux des ovocytes en vitellogenèse endogène. Kestemont avait déjà observé ce phénomène chez le goujon en 1990.

L'importance des erreurs standards observées en période de reproduction chez les pondeurs multiples indique que si le RGS nous permet d'estimer globalement l'état de maturité des poissons, il est très imprécis lorsqu'on se situe à la limite de la saison de ponte. Seule l'analyse histologique nous permet de savoir quelle sera l'évolution de l'ovaire.

2. Considérations sur la croissance ovocytaire

La faible croissance du RGS en mars-avril et les faibles concentrations de phosphore protéique plasmatique (PPP) sont dues au redémarrage lent de l'activité vitellogénique interrompue pendant l'hiver comme l'a montré Rinchar (1994). L'absence de données cytologiques et histologiques au niveau du foie à ce moment ne nous permet malheureusement pas d'étayer nos observations en montrant le retour d'une activité hépatique orientée vers la synthèse de vitellogénine. Le pic observé en mai ($\pm 20\%$) et correspondant à l'entrée en maturation des ovocytes fait suite à une intensification de la vitellogenèse. En effet, l'observation cytologique des hépatocytes nous montre des cellules très actives avec de nombreuses mitochondries et un réticulum endoplasmique rugueux très développé tout comme Van Bohemen et al. (1981) l'avaient montré dans les hépatocytes de truite arc-en-ciel. Une autre preuve de cette croissance ovocytaire sont les valeurs élevées de 17β -oestradiol (E2).

puisque celles-ci induisent la synthèse de vitellogénine. L'histologie du foie indique la présence de phospholipides intervenant dans la synthèse de la vitellogénine alors que le glycogène (utilisé principalement comme source d'énergie) et les glycérides (utilisé comme source d'énergie mais aussi comme précurseur de la vitellogénine) subissent une mobilisation importante et sont très peu représentés au sein du foie. La chute de glycogène a été observée par Barciella et al. (1993) chez la truite arc-en-ciel. Par contre, la diminution des glycérides n'est pas en accord avec les résultats de Singh et Singh (1990) qui observent leur augmentation au cours de la vitellogenèse exogène chez le poisson chat indien *Heteropneustes fossilis*. Les concentrations de phosphore protéique plasmatique restées faibles malgré ce regain d'activité vitellogénique sont la preuve, comme l'indiquent Tyler et al. (1991), d'une incorporation élevée par les ovocytes de grande taille. Le meilleur signe de cette incorporation intense est l'augmentation du RGS.

Chez la brème bordelière, nous pensons que le nombre total d'ovocytes qui seront pondus est au départ relativement bien déterminé et qu'au cours de la première ponte, une majorité de ceux-ci est pondue puisque le nombre d'ovocytes mûrs, élevé au début des pontes, s'est réduit fortement par la suite. Les concentrations décroissantes de PPP et les dégénérescences observées rapidement au niveau cytotogique dans le foie (dégénérescence du RER, des mitochondries, apparition de corps myéloïdes) de même que la chute du RHS_m indiquent que la synthèse de vitellogénine diminue fortement ce qui réduit le nombre d'ovocytes vitellogéniques au sein de l'ovaire. Les pontes suivant la première n'impliqueraient donc plus qu'un nombre restreint d'ovocytes. La décroissance du RHS_m pendant les pontes, correspond aux observations réalisées par Bougis en 1949, chez *Mullus barbatus* ou rouget de vase, un pondueur multiple.

L'ablette, dont la période de ponte s'est révélée être la plus longue parmi les espèces considérées (du 11 mai au 12 juillet), possède tout au long de sa période de reproduction des ovocytes en vitellogenèse exogène. Les concentrations de PPP restent d'ailleurs élevées tout au long de cette période indiquant une activité vitellogénique intense. La durée des pontes observée correspond aux

résultats de Papadopol (1968). Celui-ci suggère en outre qu'à la première ponte, les femelles devraient déposer entre 43,4 et 49% du total des ovocytes devant être pondus, le reste étant émis au fur et à mesure de l'arrivée à maturité. Les besoins en VTG restent donc importants pendant toute la durée des pontes comme en témoigne les valeurs élevées de PPP, les concentrations élevées d'E2 et l'activité intense du foie (abondance du RER et des mitochondries, utilisation des glycérides, niveaux constants de phospholipides).

Kestemont (1987) suggère que le goujon peut pondre au moins quatre fois pendant une seule saison de reproduction. La présence de nombreux ovocytes vitellogéniques sur nos coupes pendant les pontes soutiennent cette hypothèse. Cette espèce possède donc un développement ovocytaire assez semblable à celui de l'ablette. Il est donc normal que l'on observe des concentrations élevées de PPP et d'E2 et des signes cytologiques de l'activité hépatique. Cependant contrairement à l'ablette, les phospholipides sont en très faibles quantités pendant les pontes.

3. Considérations sur les modifications hépatiques

Van Bohemen et al. (1981) suggéraient que pendant la vitellogenèse exogène, les valeurs élevées du rapport hépatosomatique (RHS) sont principalement dues à la synthèse hépatique de VTG. Nous pouvons donc admettre que les variations des valeurs enregistrées lors de période où la vitellogenèse exogène est absente sont dues à des processus différents.

La diminution de la différence entre le RHS_m et le RHS traduit bien la stratégie de ponte : chez le gardon (pondeur unique) cette différence s'annule rapidement tout comme la chute du RGS. Par contre, chez les trois autres espèces (pondeurs multiples) cette évolution est progressive à l'instar de la diminution du RGS.

Chez le gardon, la valeur très basse du RHS_m enregistrée au moment de la ponte correspond à une activité vitellogénique du foie réduite. Cette observation concorde avec celles réalisées par Medford et Mackay (1978) et Lenhardt (1992) chez le brochet (pondeur unique). Nous observons d'ailleurs au moment de la maturation une dégénérescence des structures impliquées dans la

synthèse de vitellogénine confirmée par les résultats de Van Bohemen et al. (1981) chez la truite arc-en-ciel. La diminution de l'activité hépatique est à l'origine de la chute de RHS_m après la ponte indiquant un arrêt de la synthèse de vitellogénine. L'augmentation du RHS_m après la ponte s'accorde sur les observations de Medford et Mackay (1978). Cette augmentation, n'est pas due à un retour de l'activité hépatique orientée vers la croissance des ovaires puisque pendant cette période ceux-ci sont au repos. Mais il faut plutôt y voir une récupération du foie et une accumulation de réserves. Nous constatons effectivement à cette époque une augmentation du glycogène et des glycérides au sein du foie. Comme l'ont suggéré Washburn et al. (1992) pour le glycogène et Singh et Singh (1990) pour les lipides, ces substances, après leur mobilisation pendant la phase d'activité des gonades, enregistrent une augmentation suite au retour à des conditions favorables à la nutrition et à la constitution des réserves. C'est d'ailleurs aussi pendant cette période que la microscopie électronique nous a révélé une réapparition des inclusions lipidiques et du glycogène au sein des hépatocytes. La chute du RHS_m entre le mois d'août et le mois de septembre ne semble impliquer que les glycérides puisque les niveaux de glycogène restent élevés. Il est donc probable que les glycérides subissent déjà une mobilisation en vue de la synthèse de VTG. Nous ne devons cependant pas oublier leur intervention dans d'autres processus métaboliques n'ayant rien à avoir avec la vitellogenèse.

Chez la brème bordelière, la chute du RHS_m pendant les pontes est en accord avec les résultats de Bougis (1949) obtenus chez le rouget de vase *Mullus barbatus*, un pondeur multiple. Elle correspond à la diminution progressive de l'activité hépatique. L'aspect ultrastructurale présente d'ailleurs une dégénérescence du RER et des mitochondries alors que les corps myéloïdes se font nombreux. A noter qu'en accord avec les résultats de Singh et Singh (1990) les phospholipides sont bien représentés pendant la vitellogenèse exogène ce qui indique que leur synthèse est active puisqu'ils interviennent dans la composition de la vitellogénine. De même leur diminution progressive pendant les pontes semble correspondre à la diminution de la synthèse de VTG. La diminution du RHS_m traduit, comme nous venons de la dire, la baisse de l'activité hépatique orientée vers les gonades mais cette diminution

est progressive puisque la vitellogénine est toujours nécessaire à la croissance d'ovocytes. Ceci correspond à la diminution également progressive des concentrations de PPP durant cette période. En fin de ponte, l'activité du foie est minimale (RHS_m minimum) et le PPP est peu abondant ($0,74 \mu\text{g/ml}$), le RER est en faible quantité dans le foie (la production de vitellogénine est donc stoppée) et les mitochondries sont nombreuses. Leur taille indique cependant que leur activité est retombée à un niveau basal. La remontée du RHS_m pendant la période de repos correspond à l'augmentation des quantités de glycogène et des glycérides dans le foie après leur utilisation intensive. Nos observations cytologiques sont en accord avec cette observation. La diminution du RHS_m du mois de septembre implique l'utilisation de ces réserves à des fins diverses. Par contre, nous ne pouvons dire si l'augmentation consécutive est le fruit d'une nouvelle accumulation car nous ne disposons pas de données histologiques à ce sujet.

Chez l'ablette, l'évolution du RHS_m au début des pontes correspond à ce que nous avons observé chez la brème bordelière. Cependant, nous remarquons en cours de ponte une nouvelle augmentation du RHS_m indiquant un regain d'activité vitellogénique du foie. En effet, chez cette espèce, nous avons vu que, contrairement à la brème bordelière, les structures mises en place pour synthétiser la vitellogénine au sein des hépatocytes persistaient plus longtemps indiquant que la synthèse de VTG est maintenue. Les niveaux de phospholipides hépatiques relativement constants pendant cette période sont d'ailleurs en accord avec un niveau constant de synthèse de VTG. Ceci se traduit également par les concentrations en PPP élevées et constantes tout au long de cette période. La durée relativement longue des pontes chez l'ablette peut expliquer la nécessité de "relancer la machine à mis parcours" de façon à poursuivre la production de VTG jusqu'à la fin des pontes. Ce maintien d'une activité hépatique intense est d'ailleurs bien visible dans nos observations cytologiques. Contrairement à ce qui fut observé chez la brème bordelière, l'augmentation du glycogène et des glycérides après les pontes ne correspond pas à une augmentation du RHS_m .

Chez le goujon, l'évolution du RHS_m pendant les pontes se distingue de celle observée chez la brème bordelière par le fait que

la valeur obtenue à la fin des pontes n'est pas la valeur minimale. Ceci traduit le fait que les dernières pontes, contrairement à celles de la brème bordelière impliquent encore un nombre relativement important d'ovocytes et que les concentrations en VTG doivent encore être suffisamment élevées pour permettre leur croissance. Comme pour l'ablette, le RER très abondant et les mitochondries très actives sont la preuve de la synthèse intense de VTG qui se traduit d'ailleurs par l'augmentation des concentrations en PPP. Contrairement à ce que nous avons observé chez les autres espèces, l'augmentation du glycogène et des glycérides après les pontes au mois d'août ne correspond pas à une augmentation du RHSm. Au contraire, c'est à ce moment que le RHSm est au plus bas. Il est donc possible que cette chute implique beaucoup plus que la fin d'activité vitellogénique du foie.

4. Considérations sur l'évolution de la 17 β -oestradiol et du phosphore protéique plasmatique

Tout d'abord comparons nos valeurs par rapport à celles trouvées dans la littérature. En ce qui concerne le PPP, les valeurs maximales enregistrées chez chacune des espèces étudiées (gardon : 2,90 $\mu\text{g/ml}$, brème bordelière : 4,87 $\mu\text{g/ml}$, ablette : 5,54 $\mu\text{g/ml}$ et goujon : 6,98 $\mu\text{g/ml}$) sont de 4,5 à 75 fois moins élevées que celles reprises au tableau 2 (en oubliant pas de convertir ces dernières : 0,1 $\mu\text{mole/ml}$ = 3 à 4 $\mu\text{g/ml}$). Ne disposant pas d'autres données de concentrations en PPP pour les espèces sur lesquelles nous avons travaillé, nous ne pouvons dire si de tels écarts sont dus à des différences interspécifiques ou à des sensibilités différentes de méthodes dosages.

Concernant l'E2, les valeurs maximales obtenues (gardon : 5,14 ng/ml, brème bordelière : 3,24 ng/ml; ablette : 3,27 ng/ml; goujon : 1,99 ng/ml) se situent dans la fourchette des concentrations reprises dans la littérature allant de moins de 1 ng/ml à plus de 50 ng/ml.

Chez le gardon, l'augmentation des concentrations en septembre et octobre explique l'entrée en vitellogenèse exogène des poissons capturés au cours de cette période. A ce moment, des concentrations élevées de PPP sont associées à des concentrations importantes d'E2. Ceci n'est pas le cas tout le temps comme nous le verrons plus loin.

L'absence de prélèvements en novembre, décembre, janvier et février ne nous permet pas d'observer l'évolution des concentrations pendant l'hiver. Néanmoins, sur base des informations apportées par Mattheeuws et al. (1981) et par Rinchar (1994) qui suggèrent une diminution de la croissance ovocytaire à cette période, nous sommes en droit de penser que ces concentrations n'ont guère évolué et même probablement chuté pendant cette période. Si cette hypothèse se vérifie, ce type de variations de PPP ne correspondrait pas à l'évolution de la VTG chez la truite arc-en-ciel, où Van Bohemen et al. (1981) ont observé un pic environ un mois avant le début des pontes. Le pic d'E2 observé au mois de mars s'explique par la présence d'ovocytes vitellogéniques synthétisant ce stéroïde. Les concentrations faibles de PPP à ce moment sont dues comme nous l'avons déjà dit à l'incorporation active de la VTG par les ovocytes. La chute des concentrations en E2 observées suite à ce pic est une preuve supplémentaire de l'effet de la température sur la stéroïdogénèse. En effet, entre le 28 mars et le 19 avril, les températures sont tombées à moins de 10°C. L'augmentation de ces températures à partir de cette date (15,2°C le 8 mai) correspond à l'augmentation d'E2. Comme le montre la figure 40, la maturation chez le gardon est accompagnée de concentrations élevées d'E2 et faibles de PPP. Cette abondance d'E2 est due à la présence d'ovocytes la synthétisant. Cependant, ces ovocytes ayant fini leur croissance n'ont plus besoin de VTG. L'E2 n'a donc plus d'effet sur sa production au niveau du foie. Nous remarquons aussi que, contrairement à la chute d'E2 favorisant la maturation observées par différents auteurs (Scott et al., 1984; Mac Kenzie et al., 1989), les valeurs ne semblent pas diminuer énormément. Il est probable que cette diminution soit progressive chez cette espèce s'étalant sur quelques jours et non brusque comme le suggère les auteurs précités chez d'autres espèces.

Chez la brème bordelière, l'évolution du PPP pendant les pontes ne correspond pas aux données reprises dans la littérature consultée, à savoir un maintien des concentrations en PPP élevées pendant les pontes. Nous assistons à la décroissance progressive des valeurs puisque la synthèse de VTG diminue. Quant à l'évolution d'E2, son profil correspond tout à fait à ce qu'on trouve dans la littérature (Kagawa et al., 1983; Stacey et al., 1983; Methven et al., 1992;

Rinchar et al., 1993) : les valeurs augmentent pendant les pontes correspondant à la présence d'ovocytes vitellogéniques produisant encore de l'E2. Nous constatons que pendant la vitellogenèse exogène, des concentrations élevées en PPP correspondent à des concentrations élevées en E2. Cependant, cette relation disparaît au cours de pontes. Malgré l'abondance d'E2 suite à sa synthèse par les ovocytes, il n'est plus nécessaire de produire de la VTG en grande quantité puisque peu d'ovocytes doivent encore être pondus. Il existe donc comme chez le gardon un mécanisme empêchant E2 de stimuler l'activité vitellogénique du foie. La figure 40 montre que les concentrations en PPP sont les plus élevées pendant la vitellogenèse exogène indiquant l'importance accordée à la première population d'ovocytes qui sera pondue.

Chez l'ablette, l'évolution du PPP et d'E2 correspond bien à ce qu'on retrouve dans la littérature (Kagawa et al., 1983; Stacey et al., 1983; Burke et al., 1984, Greeley et al., 1988, Methven et al., 1992; Rinchar et al., 1993) pour les pondeurs multiples à savoir, des niveaux de PPP et d'E2 qui augmentent progressivement pendant la vitellogenèse exogène et demeure élevés pendant les pontes. Chez cette espèce, nous constatons une bonne corrélation des niveaux élevés d'E2 et un maintien élevé du PPP. Ceci s'explique de nouveau par la stratégie de ponte de l'espèce (voir considérations sur la croissance ovocytaire) : pendant toute la période des pontes, période relativement longue (2 mois) il est nécessaire de produire la VTG en suffisance. L'action d'E2 sur la production de VTG n'est donc pas soumise à un contrôle pendant la durée des pontes, ce qui distingue l'ablette de ce que nous avons observé chez la brème bordelière.

Chez le goujon, le profil de PPP correspond à ce qui a été rencontré dans la littérature (Kagawa et al., 1983; Burke et al., 1984; Kobayashi et al., 1988, Greeley et al., 1988, Methven et al., 1992) et à ce que nous avons observé chez l'ablette à savoir une augmentation progressive pendant la vitellogenèse et son maintien à des concentrations élevées pendant les pontes. Ces niveaux élevés indiquent que la vitellogenèse est toujours importante puisqu'il faut continuellement amener des ovocytes à maturité. En ce qui concerne l'E2, l'absence de fluctuations nettes et des niveaux restant toujours relativement bas indiquent que des concentrations élevées ne sont pas

nécessaires pour avoir des concentrations élevées de PPP comme l'ont suggéré Whitehead et al. (1983) pour la truite arc-en-ciel. Il semble donc que pour certaines espèces des processus plus complexes qu'une simple relation de cause à effet existe entre E2 et la VTG.

5. Considérations sur les avantages et les désavantages de la stratégie de ponte

Nous avons constaté que le gardon se reproduit avant les trois pondeurs multiples. Si cette année, l'écart n'est pas important entre la ponte du gardon et celles du premier pondeur multiple c'est à cause des températures basses enregistrées au mois d'avril. En effet, le gardon est capable de se reproduire en avril voire fin mars (Mattheeuws et al., 1981; Rinchar, 1994). Si nous observons les données de la littérature (Kestemont et Philippart, 1991) nous remarquons que les pondeurs uniques (Salmonidae, Esocidae, Percidae et certains Cyprinidae comme le hotu, la vandoise et le gardon) se reproduisent tôt dans la saison (espèces hivernales et printanières précoces) alors que les pondeurs multiples sont plus tardifs.

Les Salmonidés représentent un cas à part puisque leurs ovocytes sont très volumineux (5 mm) et le vitellus est abondant, ne les soumettant donc pas aux aléas des variations climatiques. Par contre les autres pondeurs uniques produisent de petits oeufs et ceux-ci risquent d'être détruits suite à une dégradation des conditions climatiques toujours possible au printemps. Alors pourquoi ne pondent-ils qu'une fois et si tôt ?

Nous pouvons supposer que les conditions trophiques (alimentaires) n'étant pas suffisantes à cette époque de l'année, l'investissement énergétique impliqué non seulement dans la ponte mais également dans tous les processus liés au comportement reproducteur (recherche de partenaires, parade amoureuse, luttes) ne peut être étalé sur une longue période. Les avantages que peuvent tirer ces espèces par rapport aux pondeurs multiples, c'est que leur progéniture sera la première à bénéficier de la nourriture au moment où celle-ci sera de nouveau abondante. D'autre part pour les larves carnivores, les larves des pondeurs multiples seront un met de choix.

Les pondeurs multiples profitent de conditions climatiques et trophiques plus favorables étalant leur potentiel reproductif sur plusieurs pontes assurant ainsi la survie d'au moins une partie de la progéniture. Des questions peuvent alors se poser à savoir comment évolue la qualité des oeufs au cours de ces pontes successives ? Est-ce que les premiers sont de meilleure qualité que les suivants. Les larves de la première cohorte ont-elles une croissance différentes des autres ?

CINQUIEME PARTIE : RESUME, CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Le but de ce travail était d'étudier la vitellogenèse et en particulier la dynamique de synthèse de la vitellogénine par le foie corrélée à la croissance ovocytaire, chez un pondeur unique, le gardon *Rutilus rutilus* et trois pondeurs multiples la brème bordelière, *Blicca bjoerkna*, l'ablette, *Alburnus alburnus* et le goujon, *Gobio gobio*.

Dans un premier temps, nous avons effectué, dans la littérature existante, une recherche des différents éléments pouvant nous aider à mieux cerner la problématique. Il ressort que :

- il existe des différences de profil plasmatique de la vitellogénine et de la 17β -oestradiol (hormone provoquant la synthèse de la vitellogénine par le foie) selon que l'on considère des pondeurs uniques ou des pondeurs multiples. Chez les premiers les concentrations de phosphore protéique plasmatique (PPP) et de 17β -oestradiol (E2) augmentent avant la ponte. L'E2 subit alors une chute pour permettre la maturation alors que le PPP diminue lentement. Chez les seconds, ces substances restent élevées pendant toute la durée des pontes.
- bien que l'E2 soit l'hormone induisant la synthèse de vitellogénine, il n'est pas rare d'observer une évolution contradictoire de ces deux substances.
- l'E2 induit dans le foie des modifications biochimiques en provoquant entre autre la mobilisation de lipides et de carbohydrates en vue de la synthèse de vitellogénine. En outre, cette synthèse de la vitellogénine induit au niveau cytologique des modifications des hépatocytes.

La seconde partie de notre travail a consisté à prélever, en milieu naturel, des individus femelles de chaque espèce considérée. Ces prélèvements se sont réalisés de mars à octobre avec une fréquence d'un toute les deux semaines avant les pontes, d'un par

semaine au moment des pontes et d'un par mois après les pontes. L'intensification des prélèvements au moment de la période de reproduction avait pour but de cerner le mieux possible les modifications survenant au cours de celle-ci.

Sur chaque espèce, trois grands axes de recherche étaient alors suivi et mis en relation avec leur dynamique de développement ovocytaire :

- d'une part, nous avons observé l'évolution de différents facteurs morphologiques (rapports gonadosomatique et hépatosomatique, facteur de condition), témoins globaux des modifications encourues par les individus au cours de leur cycle sexuel;
- d'autre part, nous avons dosé la vitellogénine (par une méthode indirecte mesurant le phosphore protéique plasmatique) et la 17β -oestradiol dans le plasma des individus capturés. Ces deux substances, témoins des déroulement de la vitellogenèse, nous ont renseigné sur son évolution corrélée à la croissance ovocytaire;
- enfin, nous avons également réalisé un suivi histologique et cytologique du foie, en tant que "moteur" de la vitellogenèse, de manière à observer, l'évolution de son activité vitellogénique au cours du cycle sexuel.

Les espèces sur lesquelles nous avons travaillé n'ayant pas encore fait l'objet de telles études, nos résultats sont intéressants à plusieurs niveaux. Nous avons logiquement pu montrer que des différences existaient entre le pondeur unique et les pondeurs multiples au niveau de la dynamique de la vitellogenèse :

- chez le gardon, l'arrêt brusque de l'activité vitellogénique juste avant la ponte se traduit par un rapport hépatosomatique minimal (1,16%), des concentrations en phosphore protéique plasmatique qui chutent (de 1,72 $\mu\text{g/ml}$ le 30 avril à 0,82 $\mu\text{g/ml}$ le 8 mai) et une dégénérescence des structures témoignant de la synthèse de vitellogénine (RER, mitochondrie);

- chez les pondeurs multiples, la nécessité de produire de la vitellogénine pour permettre la croissance de plusieurs populations d'ovocytes se remarque dans l'évolution progressive des différents paramètres suivis. Nous avons, au sein de ces espèces mis en évidence des différences liées à leur dynamique de croissance ovocytaire. La brème bordelière semble accorder une grande importance à la première population d'ovocytes ce qui nécessite une importante activité vitellogénique. Les pontes suivantes impliquent un nombre réduit d'ovocytes et la demande en vitellogénine diminue. Nous observons donc des concentrations importantes de phosphore protéique plasmatique juste avant le début des pontes (4,87 ng/ml le 9 mai) puis qui diminuent progressivement (3,21 ng/ml le 24 mai, 1,82 ng/ml le 14 juin et 0,74 ng/ml le 29 juin). De plus la diminution progressive du RHS_m indique la baisse d'activité du foie, bien visible au niveau histologique suite à une dégénérescence progressive du RER et des mitochondries. L'ablette et le goujon possèdent un développement ovocytaire semblable où le recrutement d'ovocytes au cours des pontes est encore important expliquant les concentrations toujours élevées de phosphore protéique plasmatique pendant les pontes (respectivement de 1,95 à 4,44 $\mu\text{g/ml}$ et de 3,04 à 5,31 $\mu\text{g/ml}$) et l'activité hépatique soutenue. Toutefois, nous avons observé une particularité chez l'ablette sans doute liée à la longueur de sa période de ponte : il semble en effet que l'activité hépatique montre deux pics (traduits par le RHS_m), un juste avant les pontes et l'autre pendant, comme si la durée importante des pontes nécessitait qu'on "relance la machine".

Une autre observation est que l'effet de la 17β -oestradiol sur le foie semble contrôlé de manière à empêcher la production de vitellogénine quand elle n'est plus nécessaire et cela même si les concentrations de 17β -oestradiol sont toujours élevées. Enfin, il apparaît que le suivi des modifications de la composition hépatique en lipides et en glycogène corrélée avec la reproduction n'est pas toujours aisée : en effet, à ces variations s'ajoutent celles à relier à d'autres activités métaboliques des poissons.

Dans des études ultérieures, il serait donc intéressant :

- d'étudier le contrôle de l'activité de la 17β -oestradiol sur le foie en travaillant sur l'évolution des récepteurs hépatiques ou en recherchant un inhibiteur de l'action de la 17β -oestradiol;

- de tenter de dégager la contribution du foie au développement des gonades de sa contribution aux autres activités métaboliques. Dans cette optique, il serait intéressant de suivre parallèlement l'évolution du contenu énergétique du foie, des gonades et reste du corps. Une autre possibilité est de placer deux groupes de poisson en conditions contrôlées. L'un de ces groupes serait dans un environnement permettant le déroulement normal de la ponte et l'autre, soumis à des conditions empêchant celle-ci. La comparaison de l'évolution du foie entre ces deux groupes permettrait de faire la part entre ce qui revient aux gonades et ce qui ne leur revient pas;

- de suivre l'évolution de la qualité des oeufs chez les pondeurs multiples. En effet, ceux-ci étalant leur potentiel reproductif sur plusieurs pontes, qu'en est-il de la qualité des derniers oeufs pondus, après un investissement énergétique considérable, par rapport à la première population. Si différence il y a, cela a-t-il une influence sur la croissance des larves, leur survie donc sur la dynamique de population?

BIBLIOGRAPHIE

Abraham, M., Hilge, V., Akert, K. & Sandri, C., 1986. The teleost oocytes and the follicle cells in relation to transport and incorporation of vitellogenin. In *Reproduction in fish-Basic and applied aspects in endocrinology and genetics*. Ed. INRA, Paris, pp. 39-43.

Aida, K., 1991. Environmental regulation of reproductive rhythms in teleosts. *Bull. Inst. Zool.*, **16**, 173-187.

Aida, K., Hirose, K., Yokote, M. & Hibiya, T., 1973. Physiological studies on gonadal maturation of fishes. II. Histological changes in the liver cells of ayu following gonadal maturation and estrogen administration. *Bull. Jap. Soc. sci. Fish.*, **39**, 1107-1115.

Balbontin, F., Espinosa, X. & Pang, P., 1978. Gonadal maturation and serum calcium levels in two teleosts, the hake and the killifish. *Comp. Biochem. Physiol.*, **61A**, 617-621.

Barciella P., Soengas, J.L., Rey, P., Aldegunde, M. & Rozas, G., 1993. Carbohydrate metabolism in several tissues of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, is modified during ovarian recrudescence. *Comp. Biochem. Physiol.*, **106B**, 943-948.

Bayliss, O.B. & Adams, C.W.M., 1972. Bromine Sudan Black (BSB). A general stain for tissue lipids including free cholesterol. *Histochemical Journal*, **4**, 505.

Beams, H.W. & Kessel, R.G., 1973. Oocyte structure and early vitellogenesis in the trout *Salmo gairdneri*. *Am. J. Anat.*, **136**, 105-122.

Berlinsky, D.L. & Specker, J.L., 1991. Changes in gonadal hormones during oocyte development striped bass, *Morone saxatilis*. *Fish Physiol. Biochem.*, **9**, 51-62.

Bougis, P., 1949. Rapport hépatosomatique et rapport gonadosomatique chez *Mullus barbatus* L. *Bull. Soc. Zool. France*, **LXXIV**, 326-330.

Breton, B., Fostier, A., Zohar, Y., Le Bail, P.Y. & Billard, R., 1983. Gonadotropine glycoprotéique maturante et oestradiol-17 β pendant le cycle reproducteur chez la truite fario (*Salmo trutta*) femelle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **49**, 220-231.

Burke, M., Leatherland, J. & Sumpter, J., 1984. Seasonal changes in serum testosterone, 11-ketotestosterone, and 17 β -estradiol levels in brown bullhead, *Ictalurus testudineus* Lesueur. *Can. J. Zool.*, **62**, 1195-1199.

Burzawa-Gérard, E. & Dumas-Vidal, A., 1991. Effects of 17 β -estradiol and carp gonadotropin on vitellogenesis in normal and hypophysectomized European silver female eel (*Anguilla anguilla* L.) employing a homologous radioimmunoassay for vitellogenin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **84**, 264-276.

Byczkowska-Smyk, W., 1971. Observations on the ultrastructure of hepatic cells of the chub (*Leuciscus cephalus* L.) and roach (*Rutilus rutilus* L.). *Acta Biologica Cracoviensia*, **XIV**, 18-21.

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

Cain, A.J., 1947. Use of Nile Blue in the examination of lipids. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, **88**, 383.

Carragher, J.F. & Sumpter, J.P., 1991. The mobilization of calcium from calcified tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced to synthesize vitellogenin. *Comp. Biochem. Physiol.*, **99A**, 169-172.

Chen, T.T., 1983. Identification and characterization of estrogen-responsive gene products in the liver of rainbow trout. *Can. J. Biochem. Cell Biol.*, **61**, 802-810.

Chung-Wai Ho, F., & Vanstone, W.E., 1961. Effect of oestradiol monobenzoate on some serum constituents of maturing sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *J. Fish Res. Bd. Can.*, **18**, 859-864.

Copeland, P.A., Sumpter, J.P., Walker, T.K. & Croft, M., 1986. Vitellogenin levels in male and female rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) at various stages of the reproduction cycle. *Comp. Biochem. Physiol.*, **60B**, 487-493.

Covens, M., Covens, L., Ollevier, F. & De Loof, A., 1987. A comparative study of some properties of vitellogenin (Vg) and yolk proteins in a number of freshwater and marine teleost fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, **88B**, 75-80.

Craik, J.C.A. & Harvey, S.M., 1984. A biochemical method for distinguishing between the sexes of fishes by the presence of yolk protein in the blood. *J. Fish Biol.*, **25**, 293-303.

Crim, L.W. & Idler, D.R., 1978. Plasma gonadotropin, estradiol, and vitellogenin and gonad phosphitin levels in relation to the seasonal reproductive cycles of female brown trout. *Ann. Biol. Anim., Biochim., Biophys.*, **18**, 1001-1005.

Dasmahapatra, A.K. et Medda, A.K., 1982. Effect of estradiol dipropionate and testosterone propionate on the glycogen lipid, and water contents of liver, muscle, and gonad of male and female (vitellogenic and nonvitellogenic) singi fish (*Heteropneutes fossilis* B.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **48**, 476-484.

Dawson, A.S., & Grimm, A.S., 1980. Quantitative seasonal changes in the protein, lipid and energy content of the carcass, ovaries and liver of adult female plaice, *Pleuronectes platessa* L. *J. Fish Biol.*, **16**, 493-504.

Delahunty, G. & De Vlaming, V.L., 1980. Seasonal relationships of ovary weight, liver weight and fat stores with body weight in the goldfish, *Carassius auratus* (L.). *J. Fish Biol.*, **16**, 5-13.

De Vlaming, V.L., 1983. Oocyte development patterns and hormonal involvements among teleosts. In *Control Processes in fish Physiology*. Eds Rankin, J. C., Pitcher, T. & Duggan R.Croom-Helm, London, pp.176-199.

De Vlaming, V.L., Wiley, H.S., Delahunty, G. & Wallace, R.A., 1980. Goldfish (*Carassius auratus*) vitellogenin : induction, isolation, properties and relationship to yolk proteins. *Comp. Biochem. Physiol.*, **67B**, 613-623.

De Vlaming, V.L., FitzGerald, R., Delahunty, G., Ceeh, J., Silman, K. & Barkley, M., 1984. Dynamics of oocyte development and related changes in serum estradiol-17 β , yolk precursor and lipid levels in the teleostean fish, *Leptocottus armatus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **77A**, 599-610.

Ding, J.L., Hee, P.L. & Lam, T.J., 1989. Two forms of vitellogenin in the plasma and gonads of male *Oreochromis aureus*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **93B**, 363-370.

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

Emmersen, B.K. & Petersen, I.M., 1976. Natural occurrence and experimental induction by estradiol-17- β of a phospholipoprotein (vitellogenin) in flounder, *Platichthys flesus* (L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **53B**, 443-446.

Emmersen, B.K., Korsgaard, B. & Petersen, I.M., 1979. Dose response kinetics of serum vitellogenin, liver DNA, RNA, protein and lipid after induction by estradiol-17 β in male flounders (*Platichthys flesus* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **63B**, 1-6.

Follet, B.K. & Redshaw, M.R., 1974. The physiology of vitellogenesis. In : *Physiology of the amphibia*, vol. II. Ed Lofts B., Acad. Press, pp. 208-215.

Fostier, A., Jalabert, B., Billard, R., Breton, B. & Zohar, Y., 1983. The gonadal steroids. In *Fish Physiology*, vol. IX, part A, reproduction. Eds Hoar, W.S., Randall, D.J. & Donaldson, E.M., Acad. Press, 277-371.

Fremont, L. & Riazi, A., 1988. Biochemical analysis of vitellogenin from rainbow trout (*Salmo gairdneri*) : fatty acid composition of phospholipids. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **2B**, 939-952.

Goedmakers, A. & Verboom, B.L., 1974. Studies on the maturation and fecundity of the pike, *Esox lucius*. *Aquaculture*, **4**, 3-12.

Grassé, P.P., 1958. *Trité de Zoologie : Anatomie, Systématique, Biologie*. Eds Masson et Cie, Tome XIII, Agnathes et Poissons, Anatomie, Ethologie, Systématique, pp.1289-1293.

Greeley, M.S., Calder, D.R. & Wallace, R.A., 1986. Changes in teleost yolk proteins during oocyte maturation : correlation of yolk proteolysis with oocyte hydration. *Comp. Biochem. Physiol.*, **84B**, 1-9.

Greeley, M.S., MacGregor III R. & Marion, K.R., 1988. Variation in plasma oestrogens and androgens during the seasonal and semilunar spawning cycles of female gulf killifish, *Fundulus grandis* (Baird and Girard). *J. Fish Biol.*, **33**, 419-429.

Guraya, S.S., 1979. Recent advances in the morphology, cytochemistry and function of Balbiani's vitelline body in animal oocytes. *Int. Rev. Cytol.*, **59**, 249-321.

Hara, A. & Hirai, H., 1978. Comparative studies on immunological properties of female-specific serum protein and egg yolk proteins in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **59B**, 339-343.

Hara, A. & Hirai, H., 1982. Structural studies of bony fish vitellogenin. In *Proceedings of the International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*. Eds Richter, C. J. J. & Goos, H. J., Wageningen, p. 158.

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

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

Hjartarson, S.V., Björnsson, B.Th., Moksness, E. & Norberg, B., 1991. Induction of vitellogenin synthesis in juvenile striped wolffish (*Anarhichas lupus* L.). In *Proceeding of 4th Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish*, Norwich, pp. 24-25.

Hoar, W.S. & Nagahama, Y., 1978. The cellular sources of sex steroids in teleost gonads. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.*, **18**, 893-898.

Hori, S.H., Komada, T. & Takahashi, K., 1979. Induction of vitellogenin synthesis in golfish by massive doses of androgens. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **37**, 306-320.

Hotchkiss, R.D., 1948. A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissues preparations. *Arch. Biochem.*, **16**, 131-141.

Htun-Han, M., 1978. The reproductive biology of the dab *Limanda limanda* (L.) in the north sea : seasonal changes in the ovary. *J. Fish Biol.*, **13**, 351-359.

Idler D.R., Hwang, S. J & Crim, L.W., 1979. Quantification of vitellogenin in Atlantic salmon (*Salmo salar*) plasma by radioimmunoassay. *J. Fish. Res. Board Can.*, **36**, 574-578.

Jared, D.W. & Wallace, R.A., 1968. Comparative chromatography of the yolk proteins of teleosts. *Comp. Biochem. Physiol.*, **24**, 437-443.

Kagawa, H. & Nagahama, Y., 1981. *In vitro* effects of prostaglandins on ovulation in goldfish *Carassius auratus*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **47**, 1119-1121.

Kagawa, H., Young, G. & Nagahama, Y., 1983. Changes in the plasma steroid hormone levels during gonadal maturation in female goldfish *Carassius auratus*. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **49**, 1783-1787.

Kestemont, P., 1987. Etude du cycle reproducteur du goujon, *Gobio gobio* L. 1. Variations saisonnières dans l'histologie de l'ovaire. *J. Applied. Ichthyol.*, **4**, 145-157.

Kestemont, P., 1988. Etude des potentialités d'élevage intensif du goujon, *Gobio gobio*, L. Reproduction et croissance larvaire. Dissertation présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences, Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix, Namur, 233p. (inédit).

Kestemont, P., 1990. Dynamic aspect of ovogenesis in an asynchronous fish, the gudgeon *Gobio gobio* L. (Teleostei, Cyprinidae), under controlled temperature and photoperiod conditions. *Aquat. Living Resour.*, **3**, 61-74.

Kestemont, P. & Phillipart, J.C., 1991. Considérations sur la croissance ovocytaire chez les poissons à ovogenèse synchrone et asynchrone. *Belg. J. Zool.*, **120**, 263-274.

Khoo, K.H., 1975. The corpus luteum of goldfish (*Carassius auratus* L.) and its functions. *Can. J. Zool.*, **53**, 1306-1323.

Kishida, M. & Specker, J.L., 1993. Vitellogenin in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) : induction of two forms by estradiol, quantification in plasma and characterization in oocyte extract. *Fish Physiol. Biochem.*, **12**, 171-182.

Kobayashi, M., Aida, K. & Hanyu, I., 1988. Hormones changes during the ovulatory cycle in goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **69**, 301-307.

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

Kwon, H.C., Hayashi, S. & Mugiya, Y., 1993. Vitellogenin induction by estradiol-17 β in primary hepatocyte culture in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **104B**, 381-386.

Langeron, 1942. Précis de microscopie : technique-expérimentation-diagnostic. Masson et Cie, Paris, 1339p.

Lee, K.B.H., Lim, E.H., Lam, T.J. & Ding, J.L., 1992. Vitellogenin diversity in the perciformes. *J. Exp. Zool.*, **264**, 100-106.

Le Menn, F., 1979. Induction of vitellogenin by oestrogenic or androgenic treatments in a teleostean fish : *Gobius niger* L. *C. R. Hebd. Séances Acad. Sci., Sér. D*, **289**, 413-416.

Le Menn, F., Numez Rodriguez, J., Breton, B. & Copeland, P., 1986. Incorporation of vitellogenin in fish. In *Reproduction in Fish - Basic and applied aspects in endocrinology and genetics*. Ed. INRA, Paris, pp. 35-38.

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

Love, R.M., 1970. The chemical biology of fishes, vol. I. Aced. Press, New-York.

Mac Gregor, R., Dindo, J. & Finucane, J.H., 1981. Changes in the serum androgens and estrogens during spawning in bluefish, *Pomatomus saltator*, and king mackerel, *Scomberomorus cavalla*. *Can. J. Zool.*, **59**, 1749-1754.

Mackay, I. & Mann, K.H., 1969. Fecundity of two cyprinid fishes in the river Thames, Redaing, England. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **26**, 2795-2805.

Mac Kenzie, D.S., Thomas, P. & Farrar, S.M., 1989. Seasonal changes in thyroid and reproductive steroid hormones in female channel catfish (*Ictalurus punctatus*) in pond culture. *Aquaculture*, **78**, 63-80.

Maître J.L., Mercier, L., Dolo L. & Valotaire, Y., 1985. Caractérisation de récepteurs spécifiques à l'oestradiol, induction de la vitellogénine et de son mRNA dans le foie de truite arc-en-ciel (*Salmo gairdnerii*). *Biochimie*, **67**, 215-225.

Maître, J.L., Valotaire, Y., & Guguen-Guillouzo, C., 1986. Estradiol-17 β stimulation of vitellogenin synthesis in primary culture of male rainbow trout hepatocytes. *In vitro*, **22**, 337-343.

Mano, Y. & Lipman, F., 1966. Characteristics of phosphoproteins (phosvitins) from a variety of fish roes. *J. Biol. Chem.*, **241**, 3822-3833.

Markert, J.R. & Vanstone, W.E., 1971. Egg proteins of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) : chromatographic separation and molecular weights of the major proteins in the high density fraction and their presence in salmon plasma. *Fish Res. Bd. Can.*, **28**, 1853-1856.

Martin, J.B. & Doty, D.M., 1949. Determination of inorganic phosphate. *Analyt. Chem.*, **21**, 965-967.

Marza, V.D., 1938. Histophysiologie de l'ovogenèse, Hermann, Paris, 81p.

Mattheeuws, A., Genin, M., Detollenaere, A. & Micha, J.C., 1980. Etude de la reproduction du gardon (*Rutilus rutilus*) et des effets d'une élévation provoquée de la température en Meuse sur cette reproduction. *Hydrobiologia*, **85**, 271-282.

Mc Evoy, L.A. & Mc Evoy, J., 1992. Multiple spawning in several commercial fish species and its consequences for fisheries management, cultivation and experimentation. *J. Fish Biol.*, **41**, 125-136.

Medford, B.A. & Mackay, W.C., 1978. Protein and lipid content of gonads, liver, and muscle of northern pike (*Esox lucius*) in relation to gonad growth. *J. Fish. Res. Board Can.*, **35**, 213-219.

Methven, D.A., Crim, L.W., Norberg, B., Brown, J.A., Goff, G.P. & Huse I., 1992. Seasonal reproduction and plasma levels of sex steroids and vitellogenin in atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **49**, 754-759.

Micha, J.C. & Ruwet, J.C., 1970. La pêche électrique en rivière et ses utilisations dans la région liégeoise. *Les naturalistes Belges*, t. **51-6**, 291-305.

Mommsen, T.P. & Walsh, P.J., 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly. In *Fish Physiology*, vol. XI, part A, reproduction. Eds Hoar, W.S. & Randall, D.J., Acad. Press, New-York, pp. 347-406.

Muus, B.J. & Dahlström, P., 1991. Guide des poissons d'eau douce et pêche. Eds Delachaux et Niestlé, Suisse, 224 p.

Nagahama, Y., 1983. The functional morphology of Teleost gonads. In *Fish Physiology*, vol. IX, part A, reproduction. Eds Hoar, W.S., Randall, D.J. & Donaldson, E.M., Acad. Press, pp. 223-276.

Nassour, I., & Léger, C.L., 1989. Deposition and mobilisation of body fat during sexual maturation in female trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Aquat. Living Resour.*, **2**, 153-159.

Ng, T.B. & Idler, D.R., 1983. Yolk formation and differentiation in teleost fishes. In *Fish Physiology*, vol. IX, part A, reproduction. Eds Hoar W.S., Randall, D.J. & Donaldson, E.M.. Academic Press, pp. 277-371.

Ng, T.B., Tam, P.P.L. & Woo, N.Y.S., 1986. Sexual maturation in the black seabream, *Mylio macrocephalus* Teleostei, Sparidaie : changes in pituitary gonadotropes, hepatocytes and related biochemical constituents in liver and serum. *Cell Tissue Res.*, **245**, 207-213.

Nopanitaya, W., Aghajanian J.G., Grisham, J.W. & Carson, J.L., 1979. An Ultrastructural study on a new type of hepatic perisinusoidal cell in fish. *Cell Tissue Res.*, **198**, 35-42.

Nunez Rodriguez, J. & Le Menn, F., 1986. Vitellogenesis in a teleost fish : the sole (*Solea vulgaris* L.). In *Reproduction in fish-Basic and applied aspects in endocrinology and genetics*. Ed. INRA, Paris, pp. 31-34.

Olin, T., Bergström, E., Jungvid, H. & Von der Decken, A., 1992. Effect of dietary keto acids on intermediary metabolism of nutrients in Atlantic salmon (*Salmo salar*) during 17 β -estradiol induced vitellogenin synthesis. *Acta Agric. Scand. Sect. A : Anim. Sci.*, **42**, 246-253.

Opresko, L.K., Wiley, H.S. & Wallace, R.A., 1980. Differential postendocytotic compartmentation in *Xenopus* oocytes is mediated by a specifically bound ligand. *Cell*, **22**, 47-57.

Opresko, L.K. & Wiley, H.S., 1987a. Receptor-mediated endocytosis in *Xenopus* oocytes. I. Characterization of the vitellogenin receptor system. *J. Biol. Chem.*, **262**, 4109-4115.

Opresko, L.K. & Wiley, H.S., 1987b. Receptor-mediated endocytosis in *Xenopus* oocytes. II. Evidence for two novel mechanisms of hormonal regulation. *J. Biol. Chem.*, **262**, 4116-4123.

Pacoli, C.Q., Grizzle, J.M. & Bradley, J.T., 1990. Seasonal levels of serum vitellogenin and oocyte growth in the channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Aquaculture*, **90**, 353-367.

Pacoli, C.Q., Grizzle, J.M. & Bradley, J.T., 1991. Immunohistochemical localization of vitellogenin and associated morphologic changes in hepatocytes of channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Can. J. Zool.*, **69**, 7-14.

Pankhurst, N.W. & Conroy, A.M., 1987. Seasonal changes in reproductive condition and plasma levels of sex steroids in the blue cod, *Parapercis colias* (Bloch and Schneider) (Mugiloididae). *Fish Physiol. Biochem.*, **4**, 15-26.

Pankhurst, N.W. & Conroy, A.M., 1988. Endocrine changes during gonadal maturation and spawning in the orange roughy (*Hoplostethus atlanticus* Collett), a teleost from midslope waters off New Zealand. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **70**, 262-273.

Papadopol, M., 1968. Contribution à l'étude de la biologie de l'ablette, *Alburnus alburnus* L., dans le bassin inférieur du Danube. *Ac. Rer. Natur. Mus. Nat. Slov.*, **24** (1), 113-134.

Petersen, I.M. & Emmersen, B.K., 1977. Changes in serum glucose and lipids, and liver glycogen and phosphorylase during vitellogenesis in nature in the flounder (*Platichthys flesus*, L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **58B**, 167-171.

Peute, J., Van der Gaag, M.A. & Lambert, J.G.D., 1978. Ultrastructure and lipid content of the liver of the zebrafish, *Brachydanio rerio*, related to vitellogenin synthesis. *Cell Tiss. Res.*, **186**, 297-308.

Philippart, J.C. & Vranken, M., 1982. Goujon, *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758). In : *Les poissons menacés de disparition de Wallonie*, Ed Duculot-Région Wallonne, pp. 173-182.

Plack, P.A., Pritchard, D.J. & Frazer, N.W., 1971. Egg proteins in cod serum. Natural occurrence and induction by injection of oestradiol-3-benzoate. *Biochem. J.*, **121**, 847-856.

Rinchard, J., 1992. Variations saisonnières des teneurs en hormones sexuelles circulant chez un poisson à ovogenèse asynchrone, le goujon *Gobio gobio* L. Mém. UNECED, FUN, 114p. (inédit).

Rinchard, J., Kestemont, P., Kühn, E.R. & Fostier, A., 1993. Seasonal changes in plasma levels of steroid hormones in an asynchronous fish the gudgeon *Gobio gobio* L. (Teleostei, Cyprinidae). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **92**, 168-178.

Rinchard, J., 1994. Etude comparative de la stratégie de reproduction chez les poissons à pontes unique et multiples. Rapport d'avancement de doctorat, 55p. (inédit).

Robel, P., 1991. Les récepteurs des hormones stéroïdes impliquées dans la reproduction : mode d'action. In *La reproduction chez les mammifères et l'homme*. INRA, Eds Ellipses, 768p.

Sand, O., Petersen, I.M. & Korsgaard-Emmersen, B., 1980. Changes in some carbohydrate metabolizing enzymes and glycogen in liver, glucose and lipid in serum during vitellogenesis and after induction by estradiol-17 β in the flounder (*Platichthys flesus* L.). *Comp. Biochem. Physiol.*, **65B**, 327-332.

Scott, A., Mac Kenzie, D. & Stacey, N., 1984. Endocrine changes during natural spawning in the white sucker, *Catostomus commersoni*. II. Steroid hormones. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **56**, 349-359.

Selman, K. & Wallace R.A., 1981. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zool. Sci.*, **6**, 211-231.

Selman, K. & Wallace R.A., 1982a. Oocyte growth in the sheephead minnow : uptake of exogenous proteins by vitellogenic oocytes. *Tissue Cell. Res.*, **14**, 555-571.

Selman, K. & Wallace R.A., 1982b. The inter- and intracellular passage of proteins through the ovarian follicle in teleosts. In *Proceedings of the International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*. Eds Richter, C. J. J. & Goos, H. J., Wageningen, pp. 151-154.

Selman, K. & Wallace R.A., 1983. Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. III. Vitellogenesis. *J. Exp. Zool.*, **226**, 441-457.

Shackley, S.E. & King, P.E., 1977. Protein yolk synthesis in *Blennius pholis* L. *J. Fish. Biol.*, **13**, 179-193.

Silversand, C. & Haux, C., 1989. Isolation of turbot (*Scophthalmus maximus*) vitellogenin by high-performance chromatography. *J. Chromatogr.*, **478**, 387-397.

Silversand, C., Hyllner, S.J. & Haux, C., 1993. Isolation, Immunochemical detection, and observations of the instability of vitellogenin from four teleosts. *J. Exp. Zool.*, **267**, 587-597.

Singh, P.B. & Singh, T.P., 1990. Seasonal correlative changes between sex steroids and lipid levels in the freshwater female catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *J. Fish Biol.*, **37**, 793-802.

So, Y.P., Idler, D.R. & Hwang, S.J., 1985. Plasma vitellogenin in landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* Ouananiche) : isolation, homologous radioimmunoassay and immunological cross-reactivity with vitellogenin from other teleosts. *Comp. Biochem. Physiol.*, **81B**, 63-71.

Spillman, C.J., 1961. Faune de France. 65 poissons d'eau douce. Eds Lechevalier P., Paris, 303p.

Stacey, N.E., Peter, R.E., Cook, A.F., Truscott, B., Walsh & Idler, D.R., 1983. Changes in plasma concentrations of gonadotropin, 17 β -estradiol, testosterone, 17 α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone during spontaneous and brain lesion induced ovulation in goldfish. *Can. J. Zool.*, **61**, 2646-2652.

Stifani, S., Le Menn, F., Numez Rodriguez, J. & Schneider, W.J., 1990. Regulation of oogenesis : piscine receptor for vitellogenin. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1045**, 271-279.

Sundararaj, P., 1981. Biochemical studies on egg-yolk protein and its precursor in catfish. *Abstr. Pap., Int. Symp. Comp. Endocrinol.*, 9th, p. 11a.

Sundararaj, B.I. & Nath, P., 1981. Steroid-induced synthesis of vitellogenin in the catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **43**, 201-210.

Tam, W.H., Roy, R.J.J. & Makaran, R., 1986. Ovarian cycle and plasma concentrations of estrogen and vitellogenin in brook trout (*Salvelinus fontinalis*, Mitchill). *Can. J. Zool.*, **64**, 744-751.

Tata, J.R. & Smith, D.F., 1979. Vitellogenesis : a versatile model for hormonal regulation of gene expression. *Rec. Prog. Horm. Res.*, **35**, 47-90.

Tyler, C.R., Sumpter, J.P. & Handford, R.M., 1990. The dynamics of vitellogenin sequestration into vitellogenic ovarian follicles of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Fish Physiol. Biochem.*, **8**, 211-219.

Tyler, C.R., Sumpter, J.P. & Campbell, P.M., 1991. Uptake of vitellogenin into oocytes during early vitellogenic development in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J. Fish Biol.*, **38**, 681-689.

Van Bohemen, Ch.G., Lambert, J.G.D. & Peute, J., 1981. Annual changes in plasma and liver in relation to vitellogenesis in the female rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **44**, 94-107.

Wallace, R.A., 1970. Studies on amphibian yolk. IX. *Xenopus* vitellogenin. *Biochem. Biophys. Acta*, **215**, 176-183.

Wallace, R.A., 1985. Vitellogenesis and oocyte growth in nonmammalian vertebrates. In *Developmental Biology*. Ed Browder L. W., vol 1, Plenum Press, New York, pp. 127-177.

Wallace, R.A. & Jared, D.W., 1968. Studies on amphibian yolk VII. Serum phosphoprotein synthesis by vitellogenic females and estrogen-treated males of *Xenopus laevis*. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **46**, 953-959.

Wallace, R.A. & Selman, K., 1985. Major protein changes during vitellogenesis and maturation of *Fundulus* oocytes. *Dev. Biol.*, **110**, 492-498.

Washburn, B.S., Bruss, M.L., Avery, E.H. & Freedland, R.A., 1992. Effects of estrogen on whole animal and tissue glucose use in female and male rainbow trout. *Am. J. Physiol.*, **32**, 1241-1247.

Whitehead, C., Bromage, N.R. & Matty, A.J., 1978. Seasonal changes in reproductive function of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish Biol.*, **12**, 601-608.

Whitehead, C., Bromage, N.R., Herbin, R. & Matty, A.J., 1980. Oestradiol-17 β , calcium and vitellogenin interrelations during accelerated and biannual spawnings in the rainbow trout. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **40**, 329-330.

Whitehead, C., Bromage, N.R. & Breton, B., 1983. Changes in serum levels of gonadotropin, oestradiol-17 β and vitellogenin during the first and subsequent reproductive cycles of female rainbow trout. *Aquaculture*, **34**, 317-326.

Whiting, S.J. & Wiggs, A.J., 1978. Effects of sexual maturation and estradiol-17 β on liver glycogen and tyrosine aminotransferase activity of brook trout, *Salvelinus fontinalis* Mitchill. *Comp. Biochem. Physiol.*, **60B**, 463-465.

Wiegand, M.D., 1982. Vitellogenesis in fishes. In *Proceedings of the International Symposium on Reproductive Physiology of Fish*. Eds Richter, C. J. J. & Goos, H. J., Wageningen, pp. 136-146.

Wiegand, M.D. & Idler, D.R., 1982. Synthesis of lipids by the rainbow trout (*Salmo gairdneri*) ovary *in vitro*. *Can. J. Zool.*, **60**, 2683-2693.

Wingfield, J.C. & Grimm, A.S., 1977. Seasonal changes in plasma cortisol, testosterone and oestradiol-17 β in the plaice, *Pleuronectes platessa* L. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **31**, 1-11.

Wootton, R.J., 1992. Environmental factors in fish reproduction. In *Reproductive Physiology of Fish*. Eds Richter et Goos, Pudoc, Wageningen : pp. 210-219.

Yamamoto, M. & Egami, N., 1974. Sexual differences and changes in the fine structure of hepatocytes in the medaka, *Oryzias latipes*. *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo Sec.*, **13**, 199-210.

Yoshikuni, M. & Nagahama, Y., 1991. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Bull. Inst. Zool. Academia*, **16**, 139-172

Zohar, Y., Breton, B. & Fostier, A., 1986. Short-term profiles of plasma gonadotropin and estradiol-17 β levels in the female rainbow trout, from early ovarian recrudescence and throughout vitellogenesis. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **64**, 172-188.

ANNEXES

Annexe 1 :

- + Solution de chloroforme-éther-éthanol (1:2:2)
- + Solution d'isobutanol-toluol (1:1)
- + Solution de silicotungstate
 - 1,425 g de silicate de sodium $9\text{H}_2\text{O}$
 - 14,85 g de tungstate de sodium $2\text{H}_2\text{O}$
 - 3,75 ml d' H_2SO_4 cc
 - 125 ml d' H_2O distilléeFaire bouillir 5 heures à reflux avant de porter le volume de la solution filtrée à 250 ml (avec de l'eau distillée).
- + Réactif de molybdate
 - 12,5 g de molybdate d'ammonium
 - 100 ml d' H_2SO_4 10N
 - dans 250 ml d'eau distillée
- + Solution d' H_2SO_4 -éthanol
 - 20 ml H_2SO_4 cc
 - 980 ml d'éthanol 99,5%
- + Solution stock de chlorure d'étain
 - 10 g de chlorure d'étain $2\text{H}_2\text{O}$
 - dans 25 ml d' HCl cc
- + Solution de chlorure d'étain dilué
 - 250 μl de la solution stock
 - dans 50 ml d' H_2SO_4 1N

Annexe 2 :

- + Tampon phosphate
 - 1,2 g/l NaH_2PO_4 (0,01M) anhydre
 - 1,42 g/l Na_2HPO_4 (0,01M) anhydre
 - 9 g/l de NaCl
 - Ajuster le pH à 7,25 avec NaOH 2N
- + Tampon phosphate gelatine
 - ajouter au tampon phosphate 1g/l de gelatine
- + Polyéthylèneglycol 25%
 - 25 g de polyéthylèneglycol
 - 75 ml de tampon phosphate sans gelatine

Annexe 3 : Résultats individuels obtenus chez les différentes espèces étudiées. L = longueur totale du poisson (cm), P = poids total (g), G = poids des gonades (g), F = poids du foie (g), RGS = rapport gonadosomatique (%), K et K_1 = facteur de condition, $K - K_1$ = différence entre ces deux paramètres, RHS = rapport hépatosomatique (%), RHS_m = rapport hépatosomatique modifié, PPP = concentration en phosphore protéique plasmatique (mg/ml), E2 = concentration en 17β -oestradiol plasmatique (ng/ml), Stade = stade de maturité des ovocytes le plus avancé présent au sein de l'ovaire, GL = glycogène, PL = phospholipides, G = glycérides.

Espèce	date	L (cm)	P (g)	G (g)	F (g)	RGS	RHS	RHS m	K	K1	K-K1	PPP(μ g/ml)	E2(ng/ml)	Stade	GL	PL	G
Gardon	7-Mar	18,5	67,8	5,99	-	8,84	-	-	1,07	0,98	0,09	1,61	0,20	3	-	-	-
Gardon	7-Mar	20,8	99,2	12,59	-	12,69	-	-	1,10	0,96	0,14	1,61	0,22	3	-	-	-
Gardon	7-Mar	22,7	126,6	14,54	-	11,48	-	-	1,08	0,96	0,12	1,25	0,72	3	-	-	-
Gardon	7-Mar	21,9	110,8	14,48	-	13,07	-	-	1,05	0,92	0,14	2,84	1,12	3	-	-	-
Gardon	7-Mar	19,3	75,6	4,72	-	6,24	-	-	1,05	0,99	0,07	0,90	0,24	3	-	-	-
Gardon	23-Mar	19,2	84,6	6,97	-	8,24	-	-	1,20	1,10	0,10	0,39	0,65	3	-	-	-
Gardon	23-Mar	19,1	81,6	10,25	-	12,56	-	-	1,17	1,02	0,15	1,43	1,87	3	-	-	-
Gardon	23-Mar	20,3	87,4	8,70	-	9,96	-	-	1,04	0,94	0,10	0,39	0,52	3	-	-	-
Gardon	23-Mar	20,2	92,7	11,49	-	12,40	-	-	1,12	0,99	0,14	-	0,28	3	-	-	-
Gardon	23-Mar	22,1	130,1	10,35	-	7,96	-	-	1,21	1,11	0,10	0,39	0,80	3	-	-	-
Gardon	28-Mar	23,4	139	13,60	-	9,79	-	-	1,08	0,98	0,11	-	-	3	-	-	-
Gardon	28-Mar	30,8	387	57,90	-	14,96	-	-	1,32	1,13	0,20	1,52	9,38	3	-	-	-
Gardon	28-Mar	22,2	131	14,49	-	11,06	-	-	1,20	1,06	0,13	0,39	5,28	3	-	-	-
Gardon	28-Mar	20,8	103	11,85	-	11,51	-	-	1,14	1,01	0,13	1,43	2,22	3	-	-	-
Gardon	28-Mar	25,2	184	22,71	-	12,34	-	-	1,15	1,01	0,14	3,34	3,68	3	-	-	-
Gardon	19-Avr	23	146,6	25,42	-	17,34	-	-	1,20	1,00	0,21	0,99	1,19	3	-	-	-
Gardon	19-Avr	23	145,5	20,39	-	14,02	-	-	1,20	1,03	0,17	1,98	5,59	3	-	-	-
Gardon	19-Avr	22	120,4	13,91	-	11,55	-	-	1,13	1,00	0,13	0,73	2,98	3	-	-	-
Gardon	19-Avr	21,5	114,7	13,60	-	11,86	-	-	1,15	1,02	0,14	0,22	1,38	3	-	-	-
Gardon	19-Avr	20,7	102,2	13,61	-	13,32	-	-	1,15	1,00	0,15	1,08	2,69	3	-	-	-
Gardon	25-Avr	25	195,5	23,20	-	11,86	-	-	1,25	1,10	0,15	1,98	3,35	3	-	-	-
Gardon	25-Avr	26,1	252	45,09	-	17,89	-	-	1,42	1,16	0,25	1,89	4,16	3	-	-	-
Gardon	25-Avr	24,6	188,1	27,76	-	14,76	-	-	1,26	1,08	0,19	2,36	9,63	3	-	-	-
Gardon	25-Avr	21	105,7	14,54	-	13,76	-	-	1,14	0,98	0,16	0,30	1,57	3	-	-	-
Gardon	25-Avr	21,8	123	16,51	-	13,42	-	-	1,19	1,03	0,16	0,56	0,75	3	-	-	-
Gardon	30-Avr	24,7	191,5	22,31	-	11,65	-	-	1,27	1,12	0,15	1,61	2,95	3	-	-	-
Gardon	30-Avr	25,1	224,9	39,67	-	17,64	-	-	1,42	1,17	0,25	1,89	8,30	3	-	-	-
Gardon	30-Avr	26,2	215,6	29,73	-	13,79	-	-	1,20	1,03	0,17	0,90	5,52	3	-	-	-
Gardon	30-Avr	27,1	267,9	20,61	-	7,69	-	-	1,35	1,24	0,10	0,73	1,59	3	-	-	-
Gardon	30-Avr	24,4	176,3	18,79	-	10,66	-	-	1,21	1,08	0,13	3,45	1,44	3	-	-	-
Gardon	5-Mai	27,4	187,3	30,90	1,79	16,50	0,96	1,14	0,91	0,76	0,15	2,75	10,80	-	-	-	-
Gardon	5-Mai	24,3	183	36,09	1,85	19,72	1,01	1,26	1,28	1,02	0,25	0,56	0,86	4	-	-	-
Gardon	5-Mai	27,1	252,3	26,80	2,15	10,62	0,85	0,95	1,27	1,13	0,13	-	n.d	3	1	4	0
Gardon	5-Mai	21,7	120,2	17,02	1,67	14,16	1,39	1,62	1,18	1,01	0,17	0,22	0,56	4	0	2	0

Gardon	5-Mai	24,4	170,7	26,42	1,62	15,48	0,95	1,12	1,18	0,99	0,18	1,34	10,18	4	1	3	0
Gardon	8-Mai	18,6	75	16,24	0,96	21,65	1,28	1,63	1,17	0,91	0,25	0,39	1,85	4	0	0	0
Gardon	8-Mai	22,7	153,1	28,89	1,74	18,87	1,14	1,40	1,31	1,06	0,25	1,43	2,70	4	1	2	0
Gardon	8-Mai	31,9	426,4	112,36	4,09	26,35	0,96	1,30	1,31	0,97	0,35	0,90	1,92	4	1	4	0
Gardon	8-Mai	22	124,1	27,44	1,06	22,11	0,85	1,10	1,17	0,91	0,26	0,73	1,60	4	-	-	-
Gardon	8-Mai	22,6	165,7	31,60	2,21	19,07	1,33	1,65	1,44	1,16	0,27	0,64	1,54	4	3	3	0
Gardon	24-Mai	22,2	112,4	2,91	1,38	2,59	1,23	1,26	1,03	1,00	0,03	0,47	0,19	6	0	5	0
Gardon	24-Mai	19,6	89,6	1,01	1,46	1,13	1,63	1,65	1,19	1,18	0,01	0,39	0,49	6	5	2	0
Gardon	24-Mai	21	110,1	1,94	1,78	1,76	1,62	1,65	1,19	1,17	0,02	2,17	0,38	6	0	4	0
Gardon	24-Mai	30	289	4,02	4,03	1,39	1,39	1,41	1,07	1,06	0,01	0,22	0,17	6	0	5	0
Gardon	14-Jun	26,7	237,7	3,54	4,45	1,49	1,87	1,90	1,25	1,23	0,02	0,14	0,34	6	5	2	0
Gardon	14-Jun	20,3	104,8	1,52	1,51	1,45	1,44	1,46	1,25	1,23	0,02	0,05	0,40	6	3	3	0
Gardon	14-Jun	26	171,9	2,48	1,60	1,44	0,93	0,94	0,98	0,96	0,01	0,22	0,28	1	0	3	0
Gardon	14-Jun	20	86,6	0,86	1,88	0,99	2,17	2,19	1,08	1,07	0,01	0,05	0,21	1	4	3	0
Gardon	13-Jul	24	184	1,53	4,57	0,83	2,48	2,50	1,33	1,32	0,01	0,05	0,13	1	4	2	4
Gardon	13-Jul	25,6	219,3	1,04	4,51	0,47	2,06	2,07	1,31	1,30	0,01	-	0,09	1	4	1	3
Gardon	13-Jul	26,3	247,7	2,34	3,92	0,94	1,58	1,60	1,36	1,35	0,01	0,05	0,16	1	4	4	4
Gardon	13-Jul	23,7	176	1,75	4,71	0,99	2,68	2,70	1,32	1,31	0,01	0,05	0,24	1	4	-	4
Gardon	10-Aoû	22,5	144,7	1,55	3,70	1,07	2,56	2,58	1,27	1,26	0,01	0,00	0,18	1	4	3	4
Gardon	10-Aoû	25	229,8	2,09	6,43	0,91	2,80	2,82	1,47	1,46	0,01	0,00	0,17	2	4	3	2
Gardon	10-Aoû	22,5	152,4	1,56	4,56	1,02	2,99	3,02	1,34	1,32	0,01	0,14	0,17	1	5	3	4
Gardon	10-Aoû	22,2	150,7	0,98	3,34	0,65	2,22	2,23	1,38	1,37	0,01	0,05	0,17	1	3	3	4
Gardon	10-Aoû	18,4	73,9	0,69	1,57	0,93	2,12	2,14	1,19	1,18	0,01	0,14	0,15	1	-	-	-
Gardon	11-Sep	27,6	261	9,56	3,00	3,66	1,15	1,19	1,24	1,20	0,05	0,00	0,18	2	-	4	3
Gardon	11-Sep	27,6	282,4	11,48	2,76	4,06	0,98	1,02	1,34	1,29	0,05	1,43	1,02	2	5	3	2
Gardon	11-Sep	24,9	194,1	15,73	3,05	8,10	1,57	1,71	1,26	1,16	0,10	2,94	2,31	3	3	3	0
Gardon	11-Sep	32,3	476,1	23,50	8,16	4,94	1,71	1,80	1,41	1,34	0,07	1,98	1,90	2	3	4	0
Gardon	11-Sep	26,7	227	7,02	3,83	3,09	1,69	1,74	1,19	1,16	0,04	1,98	1,21	2	4	3	0
Gardon	12-Oct	25,1	165	10,15	2,56	6,15	1,55	1,65	1,04	0,98	0,06	2,17	-	3	-	-	-
Gardon	12-Oct	22,4	128,7	9,29	1,53	7,22	1,19	1,28	1,15	1,06	0,08	3,14	-	3	-	-	-
Gardon	12-Oct	22,2	141,2	8,23	2,21	5,83	1,57	1,66	1,29	1,22	0,08	1,98	-	3	-	-	-
Gardon	12-Oct	23,6	148	8,60	2,16	5,81	1,46	1,55	1,13	1,06	0,07	4,83	-	3	-	-	-
Gardon	12-Oct	26,6	223,5	13,86	3,75	6,20	1,68	1,79	1,19	1,11	0,07	2,36	-	3	-	-	-

Espèce	date	L (cm)	P (g)	G (g)	F (g)	RGS	RHS	RHSm	K	K1	K-K1	PPP(μ g/ml)	E2 (ng/ml)	Stade	GL	PL	G
Brème bord.	28-Mar	18,8	74	3,38	-	4,57	-	-	1,11	1,06	0,05	-	0,63	2	-	-	-
Brème bord.	28-Mar	23,1	146	8,43	-	5,77	-	-	1,18	1,12	0,07	1,25	0,56	2	-	-	-
Brème bord.	28-Mar	21,6	122	4,43	-	3,63	-	-	1,21	1,17	0,04	0,22	0,58	2	-	-	-
Brème bord.	28-Mar	20,7	97,5	4,80	-	4,92	-	-	1,10	1,05	0,05	-	0,38	2	-	-	-
Brème bord.	25-Avr	22,8	113,4	6,88	-	6,07	-	-	0,96	0,90	0,06	0,90	0,48	2	-	-	-
Brème bord.	25-Avr	21	106,4	5,94	-	5,58	-	-	1,15	1,08	0,06	0,14	0,51	2	-	-	-
Brème bord.	25-Avr	20,9	102	5,43	-	5,32	-	-	1,12	1,06	0,06	0,22	0,58	2	-	-	-
Brème bord.	25-Avr	21,8	125,9	7,19	-	5,71	-	-	1,22	1,15	0,07	1,52	1,59	2	-	-	-
Brème bord.	25-Avr	18,5	81,1	2,95	-	3,64	-	-	1,28	1,23	0,05	0,39	0,43	2	-	-	-
Brème bord.	30-Avr	20,2	96,5	5,78	-	5,99	-	-	1,17	1,10	0,07	1,16	1,59	2	-	-	-
Brème bord.	30-Avr	21,2	115,5	5,66	-	4,90	-	-	1,21	1,15	0,06	0,73	0,62	2	-	-	-
Brème bord.	30-Avr	24,2	180,4	9,28	-	5,14	-	-	1,27	1,21	0,07	9,75	1,85	3	-	-	-
Brème bord.	30-Avr	28,8	302,3	22,86	-	7,56	-	-	1,27	1,17	0,10	2,75	3,28	3	-	-	-
Brème bord.	30-Avr	20,3	96,7	6,48	-	6,70	-	-	1,16	1,08	0,08	3,65	0,66	3	-	-	-
Brème bord.	5-Mai	26,5	236,3	17,60	4,97	7,45	2,10	2,27	1,27	1,18	0,09	1,34	1,74	2	-	-	-
Brème bord.	5-Mai	31	406,2	39,83	10,14	9,81	2,50	2,77	1,36	1,23	0,13	5,28	2,54	3	4	2	0
Brème bord.	5-Mai	23,2	143,3	6,00	2,77	4,19	1,93	2,02	1,15	1,10	0,05	0,05	1,54	-	-	-	-
Brème bord.	5-Mai	28,5	296,7	29,56	8,65	9,96	2,92	3,24	1,28	1,15	0,13	2,84	1,27	3	3	2	0
Brème bord.	5-Mai	25	203,5	18,82	4,69	9,25	2,30	2,54	1,30	1,18	0,12	4,39	4,60	3	0	0	0
Brème bord.	9-Mai	22,4	129,7	10,94	2,32	8,43	1,79	1,95	1,15	1,06	0,10	4,29	0,87	3	0	3	0
Brème bord.	9-Mai	25,5	196,3	16,76	3,24	8,54	1,65	1,80	1,18	1,08	0,10	3,34	1,07	3	1	2	0
Brème bord.	9-Mai	29,9	287,7	27,58	7,70	9,59	2,68	2,96	1,08	0,97	0,10	7,76	1,65	3	2	3	0
Brème bord.	9-Mai	25	193,4	19,21	3,93	9,93	2,03	2,26	1,24	1,11	0,12	6,97	1,17	3	1	3	0
Brème bord.	9-Mai	22	129	11,82	2,95	9,16	2,29	2,52	1,21	1,10	0,11	1,98	2,56	3	3	3	1
Brème bord.	16-Mai	25,7	213,2	21,49	5,87	10,08	2,75	3,06	1,26	1,13	0,13	3,55	0,62	3	5	3	2
Brème bord.	16-Mai	24,1	167,6	22,23	3,78	13,26	2,26	2,60	1,20	1,04	0,16	7,10	2,71	3	1	3	0
Brème bord.	16-Mai	23,2	161,7	12,72	3,33	7,87	2,06	2,24	1,29	1,19	0,10	5,28	10,02	3	1	3	0
Brème bord.	16-Mai	20,8	114	14,65	2,21	12,85	1,94	2,22	1,27	1,10	0,16	4,39	1,50	4	2	2	0
Brème bord.	16-Mai	19,4	88,7	8,90	1,25	10,03	1,41	1,57	1,21	1,09	0,12	3,76	1,34	3	0	2	0
Brème bord.	24-Mai	22,2	136,6	20,65	2,56	15,12	1,87	2,21	1,25	1,06	0,19	4,72	2,10	4	1	3	0
Brème bord.	24-Mai	21	121,5	11,89	2,00	9,79	1,65	1,82	1,31	1,18	0,13	1,08	0,37	3	0	1	0
Brème bord.	24-Mai	23,1	174	23,02	3,73	13,23	2,14	2,47	1,41	1,22	0,19	5,87	1,16	3	1	1	0
Brème bord.	24-Mai	22,7	152,2	21,77	2,31	14,30	1,52	1,77	1,30	1,12	0,19	1,61	0,29	3	1	3	0
Brème bord.	24-Mai	25,6	230,1	36,98	4,26	16,07	1,85	2,21	1,37	1,15	0,22	2,75	1,28	3	4	3	0

Brème bord.	1-Jun	20,7	115,5	14,71	1,92	12,74	1,66	1,90	1,30	1,14	0,17	1,61	2,49	3	3	3	0
Brème bord.	1-Jun	22	132,4	15,65	2,15	11,82	1,62	1,84	1,24	1,10	0,15	3,34	2,49	3	0	3	0
Brème bord.	1-Jun	24,2	186	23,84	3,08	12,82	1,66	1,90	1,31	1,14	0,17	3,34	2,40	4	0	2	0
Brème bord.	1-Jun	24	186,2	21,95	2,65	11,79	1,42	1,61	1,35	1,19	0,16	1,43	1,58	3	3	4	2
Brème bord.	1-Jun	24,1	193	16,71	2,85	8,66	1,48	1,62	1,38	1,26	0,12	3,14	1,39	4	3	2	0
Brème bord.	14-Jun	23,3	140,8	17,92	2,35	12,73	1,67	1,91	1,11	0,97	0,14	2,17	3,52	5 (4)	1	3	0
Brème bord.	14-Jun	24,4	196,8	28,73	3,58	14,60	1,82	2,13	1,35	1,16	0,20	2,46	2,92	5 (4)	0	2	0
Brème bord.	14-Jun	23,7	174,7	18,13	2,93	10,38	1,68	1,87	1,31	1,18	0,14	0,22	1,03	5 (4)	4	1	0
Brème bord.	14-Jun	25	228,2	43,71	3,46	19,15	1,52	1,88	1,46	1,18	0,28	2,27	2,02	4	2	3	0
Brème bord.	14-Jun	22,2	141,2	21,81	2,63	15,45	1,86	2,20	1,29	1,09	0,20	1,98	1,84	5 (4)	0	2	0
Brème bord.	29-Jun	26	215,3	4,03	0,59	1,87	0,27	0,28	1,22	1,20	0,02	-	0,15	-	-	-	-
Brème bord.	29-Jun	29,8	347,8	18,17	4,02	5,22	1,16	1,22	1,31	1,25	0,07	1,43	0,27	5 (3)	0	1	0
Brème bord.	29-Jun	24,3	193,9	4,50	2,99	2,32	1,54	1,58	1,35	1,32	0,03	0,05	0,09	5 (4)	3	1	1
Brème bord.	19-Jul	19,7	93,4	3,84	1,98	4,11	2,12	2,21	1,22	1,17	0,05	0,39	0,03	5 (3)	3	3	1
Brème bord.	19-Jul	21	117,9	1,37	1,93	1,16	1,64	1,66	1,27	1,26	0,01	-	0,07	6	3	2	3
Brème bord.	19-Jul	21,4	124,1	1,68	3,05	1,35	2,46	2,49	1,27	1,25	0,02	0,30	0,10	6	4	3	3
Brème bord.	19-Jul	22,7	151,9	6,53	2,92	4,30	1,92	2,01	1,30	1,24	0,06	0,22	0,17	6	4	3	3
Brème bord.	19-Jul	24	186,9	2,83	4,10	1,51	2,19	2,23	1,35	1,33	0,02	0,56	0,17	6	4	1	3
Brème bord.	16-Aoû	23	147,1	1,80	3,06	1,22	2,08	2,11	1,21	1,19	0,01	0,00	0,19	2	4	2	4
Brème bord.	16-Aoû	24,3	185,6	2,19	3,87	1,18	2,08	2,11	1,29	1,28	0,02	0,00	0,16	2	4	2	3
Brème bord.	16-Aoû	25,1	217,6	2,66	4,48	1,22	2,06	2,08	1,38	1,36	0,02	0,05	0,17	2	4	3	3
Brème bord.	16-Aoû	24,3	174,3	2,47	2,99	1,42	1,72	1,74	1,21	1,20	0,02	0,05	0,16	1	4	-	-
Brème bord.	16-Aoû	22,7	154,5	2,84	2,75	1,84	1,78	1,81	1,32	1,30	0,02	0,00	0,16	1	4	2	2
Brème bord.	9-Sep	25,5	197,3	4,06	2,44	2,06	1,24	1,26	1,19	1,17	0,02	0,22	0,45	1	-	-	0
Brème bord.	9-Sep	24,1	170,9	3,30	1,96	1,93	1,15	1,17	1,22	1,20	0,02	0,73	0,11	1	-	3	3
Brème bord.	9-Sep	23,8	150,7	2,91	2,24	1,93	1,49	1,52	1,12	1,10	0,02	0,22	0,31	1	3	3	3
Brème bord.	9-Sep	24,2	165,4	4,52	2,28	2,73	1,38	1,42	1,17	1,14	0,03	0,05	0,28	1	2	3	2
Brème bord.	9-Sep	25,7	203,6	5,18	2,42	2,55	1,19	1,22	1,20	1,17	0,03	0	0,11	1	3	3	0
Brème bord.	19-Oct	31	429,9	17,55	8,66	4,08	2,01	2,10	1,44	1,38	0,06	0,05	-	1	-	-	-
Brème bord.	19-Oct	28	327,9	12,03	6,77	3,67	2,06	2,14	1,49	1,44	0,05	0,56	-	1	-	-	-
Brème bord.	19-Oct	25,3	192,6	7,64	3,92	3,97	2,04	2,12	1,19	1,14	0,05	0,39	-	1	-	-	-

Espèce	date	L (cm)	P (g)	G (g)	F (g)	RGS	RHS	RHSm	K	K1	K-K1	PPP($\mu\text{g/ml}$)	E2 (ng/ml)	Stade	GL	PL	G
Ablette	7-Mar	14,5	22,4	1,16	-	5,17	-	-	0,73	0,70	0,04	0,00	-	2	-	-	-
Ablette	7-Mar	15,5	26,8	0,83	-	3,10	-	-	0,72	0,70	0,02	0,00	0,45	2	-	-	-
Ablette	7-Mar	15,8	28,6	0,78	-	2,73	-	-	0,73	0,71	0,02	0,00	0,27	2	-	-	-
Ablette	7-Mar	16,7	30,5	1,41	-	4,62	-	-	0,65	0,62	0,03	0,00	0,09	2	-	-	-
Ablette	7-Mar	15,7	27,8	1,28	-	4,60	-	-	0,72	0,69	0,03	0,00	0,12	2	-	-	-
Ablette	29-Mar	15,1	24,3	0,52	-	2,14	-	-	0,71	0,69	0,02	0,00	-	3	-	-	-
Ablette	29-Mar	13,2	15,3	0,53	-	3,46	-	-	0,67	0,64	0,02	-	0,55	2	-	-	-
Ablette	29-Mar	14,3	20,2	0,59	-	2,92	-	-	0,69	0,67	0,02	0,05	0,25	3	-	-	-
Ablette	29-Mar	13,5	16,8	0,61	-	3,63	-	-	0,68	0,66	0,02	0,00	0,47	3	-	-	-
Ablette	29-Mar	13,2	13,5	0,49	-	3,63	-	-	0,59	0,57	0,02	-	0,24	2	-	-	-
Ablette	22-Avr	15,9	34,3	3,21	-	9,36	-	-	0,85	0,77	0,08	2,36	3,26	4	-	-	-
Ablette	22-Avr	17,1	45,7	5,94	-	13,00	-	-	0,91	0,80	0,12	5,28	2,34	4	-	-	-
Ablette	22-Avr	17,5	49,7	3,90	-	7,85	-	-	0,93	0,85	0,07	2,94	5,18	4	-	-	-
Ablette	22-Avr	16,7	40,4	2,95	-	7,30	-	-	0,87	0,80	0,06	1,61	4,03	3	-	-	-
Ablette	22-Avr	15,9	39,6	4,63	-	11,69	-	-	0,99	0,87	0,12	2,65	1,54	4	-	-	-
Ablette	29-Avr	16,2	43,7	4,58	-	10,48	-	-	1,03	0,92	0,11	5,52	2,95	4	-	-	-
Ablette	29-Avr	16,1	37,8	2,96	-	7,83	-	-	0,91	0,83	0,07	1,80	4,21	3	-	-	-
Ablette	29-Avr	14,3	32,2	3,57	-	11,09	-	-	1,10	0,98	0,12	1,71	3,17	3	-	-	-
Ablette	29-Avr	16,8	44,3	4,46	-	10,07	-	-	0,93	0,84	0,09	1,52	3,67	4	-	-	-
Ablette	29-Avr	15,4	38	6,68	-	17,58	-	-	1,04	0,86	0,18	2,94	2,02	4	-	-	-
Ablette	5-Mai	16,8	34,1	2,61	0,53	7,65	1,55	1,68	0,72	0,66	0,06	-	3,08	4	0	0	0
Ablette	5-Mai	16,6	40,7	6,61	0,84	16,24	2,06	2,46	0,89	0,75	0,14	3,97	0,41	4	0	2	0
Ablette	5-Mai	15,2	32,1	4,67	0,61	14,55	1,90	2,22	0,91	0,78	0,13	10,68	1,87	4	0	3	0
Ablette	5-Mai	15,6	29,5	3,31	0,60	11,22	2,03	2,29	0,78	0,69	0,09	3,55	0,67	4	-	-	-
Ablette	5-Mai	14,4	24	1,78	0,58	7,42	2,42	2,61	0,80	0,74	0,06	3,97	1,13	4	4	0	2
Ablette	11-Mai	14,2	21,4	1,98	0,26	9,25	1,21	1,34	0,75	0,68	0,07	1,71	1,31	5 (1)	0	0	2
Ablette	11-Mai	15,7	29,3	2,34	0,36	7,99	1,23	1,34	0,76	0,70	0,06	3,55	2,13	4	0	0	0
Ablette	11-Mai	15,1	32,1	4,39	0,67	13,68	2,09	2,42	0,93	0,80	0,13	5,06	0,76	4	0	0	0
Ablette	11-Mai	15,9	33,2	3,30	0,51	9,94	1,54	1,71	0,83	0,74	0,08	3,97	1,31	4	0	2	0
Ablette	11-Mai	15,5	29,8	4,66	0,49	15,64	1,64	1,95	0,80	0,68	0,13	2,75	1,92	4	3	2	0
Ablette	16-Mai	17,7	42,5	4,50	0,83	10,59	1,95	2,18	0,77	0,69	0,08	2,75	0,91	4	-	-	-
Ablette	16-Mai	16,2	31,5	4,02	0,54	12,76	1,71	1,97	0,74	0,65	0,09	5,06	0,93	5 (4)	-	-	-
Ablette	16-Mai	15,6	32	5,35	0,47	16,72	1,47	1,76	0,84	0,70	0,14	3,14	1,17	4	0	2	0
Ablette	16-Mai	14,6	29	5,68	0,25	19,59	0,86	1,07	0,93	0,75	0,18	2,17	0,33	4	1	2	0

Ablette	16-Mai	15,6	31	4,27	0,30	13,77	0,97	1,12	0,82	0,70	0,11	4,72	0,22	4	-	-	-
Ablette	1-Jun	16,3	37,4	7,76	0,51	20,75	1,36	1,72	0,86	0,68	0,18	4,39	4,43	4	3	2	0
Ablette	1-Jun	15,5	34,9	5,36	0,49	15,36	1,40	1,66	0,94	0,79	0,14	2,55	2,98	5 (4)	3	3	0
Ablette	1-Jun	15,3	31,3	5,78	0,56	18,47	1,79	2,19	0,87	0,71	0,16	2,36	3,45	4	3	2	0
Ablette	1-Jun	15,5	31,2	4,03	0,35	12,92	1,12	1,29	0,84	0,73	0,11	3,76	1,26	5 (4)	3	2	2
Ablette	1-Jun	16,2	39,5	8,23	0,60	20,84	1,52	1,92	0,93	0,74	0,19	6,97	3,68	5 (4)	1	3	0
Ablette	14-Jun	17,2	39,8	5,67	0,68	14,25	1,71	1,99	0,78	0,67	0,11	3,34	5,08	4	3	1	2
Ablette	14-Jun	15,6	38,7	7,45	0,64	19,25	1,65	2,05	1,02	0,82	0,20	5,52	1,02	5 (4)	0	2	0
Ablette	14-Jun	16,2	37,2	6,13	0,74	16,48	1,99	2,38	0,87	0,73	0,14	3,65	0,85	5 (4)			
Ablette	14-Jun	16,2	41	6,09	0,82	14,85	2,00	2,35	0,96	0,82	0,14	3,45	0,58	5 (4)	3	3	0
Ablette	14-Jun	16	31,6	6,89	0,34	21,80	1,08	1,38	0,77	0,60	0,17	6,23	0,00	6	0	3	0
Ablette	24-Jun	16	36,3	4,61	0,81	12,70	2,23	2,56	0,89	0,77	0,11	4,83	6,06	5 (4)	2	0	2
Ablette	24-Jun	16,1	33	4,14	0,51	12,55	1,55	1,77	0,79	0,69	0,10	1,80	3,13	5 (4)	0	2	0
Ablette	24-Jun	15,5	27,9	3,68	0,51	13,19	1,83	2,11	0,75	0,65	0,10	2,94	1,13	5 (4)	0	3	0
Ablette	24-Jun	14,4	26	3,76	0,65	14,46	2,50	2,92	0,87	0,74	0,13	1,34	0,79	5 (4)	0	2	0
Ablette	24-Jun	15,5	35,6	3,82	0,68	10,73	1,91	2,14	0,96	0,85	0,10	6,97	1,49	5 (4)	1	3	0
Ablette	28-Jun	14,2	20,8	2,03	0,37	9,76	1,78	1,97	0,73	0,66	0,07	2,94	0,99	5 (2)	0	3	0
Ablette	28-Jun	14	23,4	4,46	0,37	19,06	1,58	1,95	0,85	0,69	0,16	2,84	0,90	5 (4)	3	2	0
Ablette	28-Jun	14,9	20,2	0,75	0,25	3,71	1,24	1,29	0,61	0,59	0,02	1,61	1,01	5 (2)	0	1	0
Ablette	28-Jun	14,8	25,1	3,55	0,26	14,14	1,04	1,21	0,77	0,66	0,11	0,39	0,24	5 (4)	0	3	0
Ablette	28-Jun	14,8	22,5	1,66	0,25	7,38	1,11	1,20	0,69	0,64	0,05	1,98	0,39	5 (4)	0	2	0
Ablette	6-Jul	14,6	22	2,32	0,35	10,55	1,59	1,78	0,71	0,63	0,07	4,72	0,57	5 (4)	1	2	2
Ablette	6-Jul	15,2	24	0,75	0,39	3,13	1,63	1,68	0,68	0,66	0,02	2,08	0,23	5 (2)	0	3	3
Ablette	6-Jul	15,9	26,6	0,88	0,40	3,31	1,50	1,56	0,66	0,64	0,02	2,65	1,01	5 (2)	0	2	2
Ablette	6-Jul	15	26,3	2,13	0,40	8,10	1,52	1,65	0,78	0,72	0,06	1,25	0,60	5 (2)	2	0	0
Ablette	6-Jul	16,1	28,7	1,76	0,46	6,13	1,60	1,71	0,69	0,65	0,04	2,55	0,46	5 (2)	0	3	3
Ablette	12-Jul	15,7	28,6	0,94	0,41	3,29	1,43	1,48	0,74	0,71	0,02	3,97	0,52	5 (2)	0	3	0
Ablette	12-Jul	14,5	21,4	0,51	0,28	2,38	1,31	1,34	0,70	0,69	0,02	1,25	0,46	5 (2)	1	2	2
Ablette	12-Jul	16,3	31,5	0,75	0,40	2,38	1,27	1,30	0,73	0,71	0,02	1,43	0,21	5 (2)	1	0	2
Ablette	12-Jul	14,8	24	1,61	0,38	6,71	1,58	1,70	0,74	0,69	0,05	3,86	0,72	5 (4)	2	2	0
Ablette	12-Jul	14,6	24,5	1,68	0,43	6,86	1,76	1,88	0,79	0,73	0,05	5,99	0,40	5 (4)	3	1	3
Ablette	16-Aoú	13,8	25	0,14	0,32	0,55	1,26	1,27	0,95	0,95	0,01	0,00	0,16	1	-	-	-
Ablette	16-Aoú	16	34,6	0,32	0,51	0,93	1,48	1,50	0,84	0,84	0,01	0,00	0,16	2	4	2	4
Ablette	16-Aoú	15,6	33,7	0,20	0,39	0,59	1,16	1,16	0,89	0,88	0,01	0,22	0,16	1	3	0	5
Ablette	16-Aoú	15,8	34,7	0,13	0,41	0,37	1,19	1,20	0,88	0,88	0,00	0,00	0,14	-	-	-	-

Ablette	12-Sep	15,1	30,3	0,38	0,58	1,27	1,92	1,95	0,88	0,87	0,01	0,00	0,38	2	3	2	3
Ablette	12-Sep	15,1	30,3	0,53	0,63	1,77	2,08	2,12	0,88	0,86	0,02	0,00	0,67	2	4	2	3
Ablette	12-Sep	14,1	22,8	0,32	0,30	1,39	1,30	1,32	0,81	0,80	0,01	0,00	0,46	2	3	2	2
Ablette	12-Sep	15,9	30,2	0,63	0,33	2,08	1,10	1,12	0,75	0,74	0,02	0,00	0,40	2	3	2	2
Ablette	12-Sep	16,8	37,5	0,64	0,47	1,70	1,25	1,28	0,79	0,78	0,01	0,22	0,43	2	3	2	-

Espèce	date	L (cm)	P (g)	G (g)	F (g)	RGS	RHS	RHSm	K	K1	K-K1	PPP ($\mu\text{g/ml}$)	E2(ng/ml)	Stade	GL	PL	G
Goujon	28-Avr	14,6	34,6	2,78	-	8,03	-	-	1,11	1,02	0,09	0,73	3,67	3	-	-	-
Goujon	28-Avr	14,8	37,3	3,49	-	9,36	-	-	1,15	1,04	0,11	0,22	1,92	3	-	-	-
Goujon	28-Avr	15,5	39,2	3,22	-	8,21	-	-	1,05	0,97	0,09	1,89	1,59	3	-	-	-
Goujon	28-Avr	14,6	32,6	2,64	-	8,10	-	-	1,05	0,96	0,08	1,71	1,29	4	-	-	-
Goujon	28-Avr	14,5	34,4	2,49	-	7,24	-	-	1,13	1,05	0,08	0,73	1,48	3	-	-	-
Goujon	10-Mai	16	46,4	6,62	1,48	14,27	3,19	3,72	1,13	0,97	0,16	3,86	0,67	3	4	0	0
Goujon	10-Mai	14,2	31,4	6,19	0,47	19,71	1,50	1,86	1,10	0,88	0,22	0,56	0,27	3	0	0	0
Goujon	10-Mai	16	39,3	4,61	0,80	11,73	2,04	2,31	0,96	0,85	0,11	1,43	0,66	3	0	2	2
Goujon	10-Mai	19,2	71,5	9,29	2,46	12,99	3,44	3,95	1,01	0,88	0,13	4,83	1,62	3	0	0	0
Goujon	10-Mai	14,2	30,6	4,15	0,62	13,56	2,03	2,34	1,07	0,92	0,14	-	0,51	3	0	0	0
Goujon	19-Mai	16,1	44	6,86	1,07	15,59	2,43	2,88	1,05	0,89	0,16	5,52	0,33	3	0	0	0
Goujon	19-Mai	15,7	48	6,07	1,28	12,65	2,67	3,05	1,24	1,08	0,16	6,72	1,04	3	0	0	0
Goujon	19-Mai	15,5	44	6,18	0,91	14,05	2,07	2,41	1,18	1,02	0,17	6,72	1,22	3	0	0	0
Goujon	19-Mai	16,2	41	6,17	1,00	15,05	2,44	2,87	0,96	0,82	0,15	6,72	0,85	3	0	0	0
Goujon	19-Mai	15,8	36	4,68	1,00	13,00	2,78	3,19	0,91	0,79	0,12	7,23	0,69	3	0	1	0
Goujon	26-Mai	14,5	33,3	7,12	0,91	21,38	2,73	3,48	1,09	0,86	0,23	-	0,83	3	0	1	0
Goujon	26-Mai	15	35,5	5,86	0,85	16,51	2,39	2,87	1,05	0,88	0,17	-	0,61	3	1	-	0
Goujon	26-Mai	13,1	27,4	5,18	0,62	18,91	2,26	2,79	1,22	0,99	0,23	4,18	0,50	4	3	0	1
Goujon	26-Mai	13,9	26	4,27	0,49	16,42	1,88	2,25	0,97	0,81	0,16	1,61	-	4	0	0	0
Goujon	26-Mai	14,2	31,3	5,20	0,57	16,61	1,82	2,18	1,09	0,91	0,18	3,34	0,21	4	0	0	0
Goujon	2-Jun	15,6	39,9	3,65	0,85	9,15	2,13	2,34	1,05	0,95	0,10	-	2,83	5 (3)		2	0
Goujon	2-Jun	14,7	31,4	2,83	0,73	9,01	2,32	2,56	0,99	0,90	0,09	7,49	1,93	5 (3)		0	0
Goujon	2-Jun	15	31	4,34	0,41	14,00	1,32	1,54	0,92	0,79	0,13	3,04	0,70	4	0	0	0
Goujon	2-Jun	15,3	31,9	4,32	0,38	13,54	1,19	1,38	0,89	0,77	0,12	2,55	0,19	4	0	0	0
Goujon	2-Jun	14,1	31,7	5,94	0,58	18,74	1,83	2,25	1,13	0,92	0,21	6,47	0,51	5 (3)	0	0	2
Goujon	14-Jun	15,1	32,2	3,04	0,55	9,44	1,71	1,89	0,94	0,85	0,09	-	0,58	5 (3)	0	1	0
Goujon	14-Jun	13,3	25,9	2,92	0,48	11,27	1,85	2,09	1,10	0,98	0,12	-	0,26	4	0	0	0
Goujon	14-Jun	15,6	34	1,78	0,49	5,24	1,44	1,52	0,90	0,85	0,05	-	0,21	5 (2)	0	1	0
Goujon	14-Jun	13,6	24,3	3,80	0,31	15,64	1,28	1,51	0,97	0,81	0,15	-	-	3	-	-	-
Goujon	14-Jun	15,8	31	2,14	0,58	6,90	1,87	2,01	0,79	0,73	0,05	-	0,50	5 (3)	1	3	0
Goujon	21-Jun	15,8	41,7	4,84	0,66	11,61	1,58	1,79	1,06	0,93	0,12	9,90	0,86	5 (3)	0	2	0
Goujon	21-Jun	13,4	23,3	1,18	0,50	5,06	2,15	2,26	0,97	0,92	0,05	0,39	0,00	5 (3)	0	2	0
Goujon	21-Jun	12,9	20,2	1,82	0,44	9,01	2,18	2,39	0,94	0,86	0,08	5,63	-	5 (3)	0	0	0
Goujon	21-Jun	12,7	17	1,12	0,18	6,59	1,06	1,13	0,83	0,78	0,05	-	0,14	5 (3)	0	0	0

Goujon	21-Jun	12,6	17,5	1,23	0,25	7,03	1,43	1,54	0,87	0,81	0,06	-	-	5 (3)	0	1	0
Goujon	5-Jul	15	32,4	0,90	0,41	2,78	1,27	1,30	0,96	0,93	0,03	1,71	0,05	6	2	2	2
Goujon	5-Jul	13,6	23,8	0,94	0,30	3,95	1,26	1,31	0,95	0,91	0,04	0,90	-	6	0	2	0
Goujon	5-Jul	14,6	28,1	0,94	0,40	3,35	1,42	1,47	0,90	0,87	0,03	0,81	0,08	6	3	2	0
Goujon	17-Aoû	13,3	19,8	0,37	0,20	1,86	1,01	1,02	0,84	0,83	0,02	0	0,16	2	-	1	2
Goujon	17-Aoû	12,6	16,3	0,30	0,09	1,83	0,58	0,59	0,81	0,80	0,01	0	0,16	2	-	1	2
Goujon	17-Aoû	12,6	18	0,31	0,14	1,70	0,80	0,81	0,90	0,88	0,02	0,05	0,34	1	4	1	2
Goujon	17-Aoû	11,9	16,1	0,27	0,09	1,65	0,58	0,59	0,96	0,94	0,02	0	0,41	1	3	2	3
Goujon	17-Aoû	11,6	13,4	0,21	0,09	1,59	0,68	0,69	0,86	0,84	0,01	0	-	1	3	2	2
Goujon	7-Sep	13,8	23,6	0,52	0,38	2,20	1,61	1,64	0,90	0,88	0,02	-	0,15	2	4	0	1
Goujon	7-Sep	13,8	26,8	0,68	0,47	2,54	1,75	1,80	1,02	0,99	0,03	0	0,16	2	4	1	4
Goujon	7-Sep	17	45,2	1,70	0,83	3,76	1,84	1,92	0,92	0,89	0,03	0,22	0,15	2	4	2	0
Goujon	7-Sep	17,5	52,3	2,04	0,90	3,90	1,73	1,80	0,98	0,94	0,04	0,05	0,16	2	4	1	0
Goujon	7-Sep	15,9	25,5	0,92	0,33	3,59	1,28	1,32	0,63	0,61	0,02	0,05	0,40	2	4	1	2
Goujon	11-Oct	15,9	34,5	1,67	0,57	4,84	1,65	1,74	0,86	0,82	0,04	1,80	-	2	-	-	-
Goujon	11-Oct	14,6	29,8	1,54	0,50	5,17	1,68	1,77	0,96	0,91	0,05	0,90	-	2	-	-	-
Goujon	11-Oct	15,5	31,5	1,09	0,48	3,46	1,52	1,58	0,85	0,82	0,03	1,43	-	2	-	-	-
Goujon	11-Oct	14,1	25,9	1,33	0,49	5,14	1,89	1,99	0,92	0,88	0,05	0,30	-	2	-	-	-

Annexe 4 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée sur les données du rapport gonadosomatique chez les 4 espèces étudiées. * = significatif ($p < 0,05$) et ** = hautement significatif ($p < 0,01$)

Espèce	source	SCE	dl	CM	F	Prob
Gardon	totale	9,486	67			
	factorielle	9,085	13	0,699	94,157**	0,0001
	résiduelle	0,401	54	0,007		
Brème bordelière	totale	1346,07	64			
	factorielle	1195,07	13	91,928	31,047**	0,0001
	résiduelle	151,009	51	2,961		
Ablette	totale	2664,04	74			
	factorielle	2126,37	14	151,884	16,949**	0,0001
	résiduelle	537,673	60	8,961		
Goujon	totale	5,471	51			
	factorielle	5,049	10	0,505	49,143**	0,0001
	résiduelle	0,421	41	0,01		

Annexe 5 : Résultats de l'analyse des contrastes par la méthode de Scheffé (comparaison de moyennes 2 à 2) effectuée sur les données du rapport gonadosomatique chez les 4 espèces étudiées. * = différences significative à 95%

GARDON			BREME BORDELIERE			ABLETTE			GOUJON		
Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé
T1-T2	0.004	0.109	T1-T2	0.541	2.318	T1-T2	0.888	3.787	T1-T2	0.240	0.129*
T1-T3	0.060	0.109	T1-T3	1.336	2.318	T1-T3	5.796	3.787*	T1-T3	0.236	0.129*
T1-T4	0.114	0.109*	T1-T4	3.410	2.318*	T1-T4	7.366	3.787*	T1-T4	0.344	0.129*
T1-T5	0.136	0.109*	T1-T5	4.407	2.318*	T1-T5	7.372	3.787*	T1-T5	0.182	0.129*
T1-T6	0.062	0.109	T1-T6	6.095	2.318*	T1-T6	7.256	3.787*	T1-T6	0.044	0.129
T1-T7	0.152	0.109*	T1-T7	8.980	2.318*	T1-T7	10.642	3.787*	T1-T7	0.034	0.129
T1-T8	0.304	0.109*	T1-T8	8.844	2.318*	T1-T8	13.624	3.787*	T1-T8	0.387	0.15*
T1-T9	0.668	0.116*	T1-T9	9.750	2.318*	T1-T9	13.282	3.787*	T1-T9	0.674	0.129*
T1-T10	0.678	0.116*	T1-T10	1.586	2.639	T1-T10	6.682	3.787*	T1-T10	0.416	0.129*
T1-T11	0.782	0.109*	T1-T11	2.236	2.318	T1-T11	6.766	3.787*	T1-T11	0.250	0.137*
T1-T12	0.764	0.109*	T1-T12	3.346	2.318*	T1-T12	2.200	3.787	T2-T3	0.004	0.129
T1-T13	0.306	0.109*	T1-T13	2.482	2.318*	T1-T13	0.280	3.787	T2-T4	0.104	0.129
T1-T14	0.192	0.109*	T1-T14	0.816	2.639	T1-T14	3.510	3.787	T2-T5	0.058	0.129
T2-T3	0.064	0.109	T2-T3	0.794	2.185	T1-T15	2.402	3.787	T2-T6	0.196	0.129*
T2-T4	0.118	0.109*	T2-T4	2.868	2.185*	T2-T3	6.684	3.787*	T2-T7	0.274	0.129*
T2-T5	0.140	0.109*	T2-T5	3.866	2.185*	T2-T4	8.254	3.787*	T2-T8	0.627	0.15*
T2-T6	0.066	0.109	T2-T6	5.554	2.185*	T2-T5	8.280	3.787*	T2-T9	0.914	0.129*
T2-T7	0.156	0.109*	T2-T7	8.438	2.185*	T2-T6	8.144	3.787*	T2-T10	0.856	0.129*
T2-T8	0.308	0.109*	T2-T8	6.302	2.185*	T2-T7	11.530	3.787*	T2-T11	0.490	0.137*
T2-T9	0.664	0.116*	T2-T9	9.208	2.185*	T2-T8	14.512	3.787*	T3-T4	0.108	0.129
T2-T10	0.674	0.116*	T2-T10	2.127	2.523	T2-T9	14.170	3.787*	T3-T5	0.054	0.129
T2-T11	0.778	0.109*	T2-T11	2.778	2.185*	T2-T10	9.570	3.787*	T3-T6	0.192	0.129*
T2-T12	0.760	0.109*	T2-T12	3.888	2.185*	T2-T11	7.654	3.787*	T3-T7	0.270	0.129*
T2-T13	0.302	0.109*	T2-T13	3.024	2.185*	T2-T12	3.088	3.787	T3-T8	0.823	0.15*
T2-T14	0.188	0.109*	T2-T14	1.357	2.523	T2-T13	1.168	3.787	T3-T9	0.910	0.129*
T3-T4	0.054	0.109	T3-T4	2.074	2.185	T2-T14	2.622	3.787	T3-T10	0.652	0.129*
T3-T5	0.076	0.109	T3-T5	3.072	2.185*	T2-T15	1.514	3.787	T3-T11	0.486	0.137*
T3-T6	0.002	0.109	T3-T6	4.760	2.185*	T3-T4	1.570	3.787	T4-T5	0.162	0.129*
T3-T7	0.092	0.109	T3-T7	7.644	2.185*	T3-T5	1.576	3.787	T4-T6	0.300	0.129*
T3-T8	0.244	0.109*	T3-T8	5.508	2.185*	T3-T6	1.460	3.787	T4-T7	0.378	0.129*
T3-T9	0.728	0.116*	T3-T9	8.414	2.185*	T3-T7	4.846	3.787*	T4-T8	0.731	0.15*
T3-T10	0.738	0.116*	T3-T10	2.921	2.523*	T3-T8	7.828	3.787*	T4-T9	1.018	0.129*
T3-T11	0.842	0.109*	T3-T11	3.572	2.185*	T3-T9	7.486	3.787*	T4-T10	0.760	0.129*
T3-T12	0.824	0.109*	T3-T12	4.682	2.185*	T3-T10	2.886	3.787	T4-T11	0.594	0.137*
T3-T13	0.366	0.109*	T3-T13	3.818	2.185*	T3-T11	0.970	3.787	T5-T6	0.138	0.129*
T3-T14	0.252	0.109*	T3-T14	2.151	2.523	T3-T12	3.596	3.787	T5-T7	0.216	0.129*
T4-T5	0.022	0.109	T4-T5	0.998	2.185	T3-T13	5.516	3.787*	T5-T8	0.569	0.15*
T4-T6	0.052	0.109	T4-T6	2.686	2.185*	T3-T14	9.306	3.787*	T5-T9	0.856	0.129*
T4-T7	0.038	0.109	T4-T7	5.570	2.185*	T3-T15	8.198	3.787*	T5-T10	0.598	0.129*
T4-T8	0.190	0.109*	T4-T8	3.434	2.185*	T4-T5	0.006	3.787	T5-T11	0.432	0.137*
T4-T9	0.782	0.116*	T4-T9	6.340	2.185*	T4-T6	0.110	3.787	T6-T7	0.078	0.129
T4-T10	0.792	0.116*	T4-T10	4.995	2.523*	T4-T7	3.276	3.787	T6-T8	0.431	0.15*
T4-T11	0.896	0.109*	T4-T11	5.646	2.185*	T4-T8	6.258	3.787*	T6-T9	0.718	0.129*
T4-T12	0.878	0.109*	T4-T12	6.756	2.185*	T4-T9	5.916	3.787*	T6-T10	0.460	0.129*
T4-T13	0.420	0.109*	T4-T13	5.892	2.185*	T4-T10	1.316	3.787	T6-T11	0.294	0.137*
T4-T14	0.306	0.109*	T4-T14	4.225	2.523*	T4-T11	0.600	3.787	T7-T8	0.353	0.15*
T5-T6	0.074	0.109	T5-T6	1.688	2.185	T4-T12	5.166	3.787*	T7-T9	0.640	0.129*
T5-T7	0.016	0.109	T5-T7	4.572	2.185*	T4-T13	7.086	3.787*	T7-T10	0.382	0.129*
T5-T8	0.168	0.109*	T5-T8	2.436	2.185*	T4-T14	10.876	3.787*	T7-T11	0.216	0.137*
T5-T9	0.804	0.116*	T5-T9	5.342	2.185*	T4-T15	9.768	3.787*	T8-T9	0.287	0.15*
T5-T10	0.814	0.116*	T5-T10	5.993	2.523*	T5-T6	0.116	3.787	T8-T10	0.029	0.150
T5-T11	0.918	0.109*	T5-T11	6.644	2.185*	T5-T7	3.270	3.787	T8-T11	0.137	0.156
T5-T12	0.900	0.109*	T5-T12	7.754	2.185*	T5-T8	6.525	3.787*	T9-T10	0.258	0.129*
T5-T13	0.442	0.109*	T5-T13	6.890	2.185*	T5-T9	5.910	3.787*	T9-T11	0.424	0.137*
T5-T14	0.328	0.109*	T5-T14	5.223	2.523*	T5-T10	1.310	3.787	T10-T11	0.166	0.137*
T6-T7	0.090	0.109	T6-T7	2.884	2.185*	T5-T11	0.606	3.787			
T6-T8	0.242	0.109*	T6-T8	0.748	2.185	T5-T12	5.172	3.787*			
T6-T9	0.730	0.116*	T6-T9	3.654	2.185*	T5-T13	7.092	3.787*			
T6-T10	0.740	0.116*	T6-T10	7.681	2.523*	T5-T14	10.882	3.787*			
T6-T11	0.884	0.109*	T6-T11	8.332	2.185*	T5-T15	9.774	3.787*			
T6-T12	0.826	0.109*	T6-T12	9.442	2.185*	T6-T7	3.386	3.787*			
T6-T13	0.368	0.109*	T6-T13	8.578	2.185*	T6-T8	6.368	3.787*			
T6-T14	0.254	0.109*	T6-T14	6.911	2.523*	T6-T9	6.026	3.787*			
T7-T8	0.152	0.109*	T7-T8	2.136	2.185	T6-T10	1.426	3.787			
T7-T9	0.820	0.116*	T7-T9	0.770	2.185	T6-T11	0.490	3.787			
T7-T10	0.830	0.116*	T7-T10	10.565	2.523*	T6-T12	5.056	3.787*			
T7-T11	0.934	0.109*	T7-T11	11.216	2.185*	T6-T13	6.976	3.787*			
T7-T12	0.916	0.109*	T7-T12	12.326	2.185*	T6-T14	10.766	3.787*			
T7-T13	0.458	0.109*	T7-T13	11.462	2.185*	T6-T15	9.658	3.787*			
T7-T14	0.344	0.109*	T7-T14	9.795	2.523*	T7-T8	2.982	3.787			
T8-T9	0.972	0.116*	T8-T9	2.906	2.185*	T7-T9	2.640	3.787			
T8-T10	0.982	0.116*	T8-T10	8.429	2.523*	T7-T10	1.960	3.787			
T8-T11	1.066	0.109*	T8-T11	9.080	2.185*	T7-T11	3.876	3.787*			
T8-T12	1.068	0.109*	T8-T12	10.190	2.185*	T7-T12	8.442	3.787*			
T8-T13	0.610	0.109*	T8-T13	9.326	2.185*	T7-T13	10.362	3.787*			
T8-T14	0.496	0.109*	T8-T14	7.659	2.523*	T7-T14	14.152	3.787*			
T9-T10	0.010	0.122	T9-T10	11.335	2.523*	T7-T15	13.044	3.787*			
T9-T11	0.114	0.116	T9-T11	11.986	2.185*	T8-T9	0.342	3.787			
T9-T12	0.096	0.166	T9-T12	13.096	2.185*	T8-T10	4.942	3.787*			
T9-T13	0.362	0.116*	T9-T13	12.232	2.185*	T8-T11	6.858	3.787*			
T9-T14	0.476	0.116*	T9-T14	10.565	2.523*	T8-T12	11.424	3.787*			
T10-T11	0.104	0.116	T10-T11	0.851	2.523	T8-T13	13.344	3.787*			
T10-T12	0.086	0.116	T10-T12	1.761	2.523	T8-T14	17.134	3.787*			
T10-T13	0.372	0.116*	T10-T13	0.897	2.523	T8-T15	16.026	3.787*			
T10-T14	0.486	0.116*	T10-T14	0.770	2.621	T9-T10	4.600	3.787*			
T11-T12	0.018	0.109	T11-T12	1.110	2.185	T9-T11	6.516	3.787*			
T11-T13	0.478	0.109*	T11-T13	0.246	2.185	T9-T12	11.082	3.787*			
T11-T14	0.590	0.109*	T11-T14	1.421	2.523	T9-T13	13.002	3.787*			
T12-T13	0.458	0.109*	T12-T13	0.864	2.185	T9-T14	16.792	3.787*			
T12-T14	0.572	0.109*	T12-T14	2.531	2.523*	T9-T15	15.684	3.787*			
T13-T14	0.114	0.109*	T13-T14	1.667	2.523	T10-T11	1.916	3.787			
						T10-T12	6.482	3.787*			
						T10-T13	8.402	3.787*			
						T10-T14	12.192	3.787*			
						T10-T15	11.084	3.787*			
						T11-T12	4.566	3.787*			
						T11-T13	6.486	3.787*			
						T11-T14	10.276	3.787*			
						T11-T15	9.168	3.787*			
						T12-T13	1.920	3.787			
						T12-T14	5.710	3.787*			
						T12-T15	4.602	3.787*			
						T13-T14	3.790	3.787*			
						T13-T15	2.682	3.787			
						T14-T15	1.108	3.787			

RAPPEL DU TEST DE SCHEFFE :

Deux moyennes sont considérées comme différentes au niveau α si :

$$|m_i - m_j| > \sqrt{(n-1) CM_r ((1/m_i) + (1/m_j)) F_{1-\alpha}}$$

où $F_{1-\alpha}$ est la valeur tabulée de F pour $(m-1)$ et $(N-m)$ degrés de liberté

m_i et m_j : les moyennes comparées

N : le nombre total d'observations

n : le nombre total de populations comparées

n_i et n_j : les nombres d'observations pour chaque moyenne

CM_r : le carré moyen résiduel

Annexe 6 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée sur les données des facteurs de condition K et K₁ chez les 4 espèces étudiées. * = significatif (p<0,05) et ** = hautement significatif (p<0,01)

Espèce	facteur	source	SCE	dl	CM	F	Prob
Gardon	K	totale	0,904	67			
		factorielle	0,44	13	0,034	3,937**	0,0002
		résiduelle	0,464	54	0,09		
	K1	totale	1,242	67			
		factorielle	0,858	13	0,066	9,295**	0,0001
		résiduelle	0,384	54	0,07		
Brème bordelière	K	totale	0,597	64			
		factorielle	0,285	13	0,022	3,597**	0,0005
		résiduelle	0,311	51	0,006		
	K1	totale	0,589	64			
		factorielle	0,316	13	0,024	4,542**	0,0001
		résiduelle	0,273	51	0,005		
Ablette	K	totale	0,853	74			
		factorielle	0,586	14	0,042	9,416**	0,0001
		résiduelle	0,267	60	0,004		
	K1	totale	0,572	74			
		factorielle	0,413	14	0,029	11,113**	0,0001
		résiduelle	0,159	60	0,003		
Goujon	K	totale	0,716	51			
		factorielle	0,339	10	0,034	3,684**	0,0014
		résiduelle	0,377	41	0,009		
	K1	totale	0,393	51			
		factorielle	0,112	10	0,011	1,623	0,1341
		résiduelle	0,282	41	0,007		

Annexe 7 : Résultats de l'analyse des contrastes par la méthode de Scheffé (comparaison de moyennes 2 à 2) effectuée sur les données des facteurs de condition K et K₁ chez les 4 espèces étudiées. * = différences significative à 95%

Facteur de condition K

GARDON			BRÈME BORDELIÈRE			ABLETTE			GOUJON		
Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé
T1-T2	0.078	0.118	T1-T2	0.004	0.105	T1-T2	0.042	0.084	T1-T2	0.044	0.123
T1-T3	0.108	0.118	T1-T3	0.066	0.105	T1-T3	0.200	0.084*	T1-T3	0.030	0.123
T1-T4	0.096	0.118	T1-T4	0.122	0.105*	T1-T4	0.292	0.084*	T1-T4	0.014	0.123
T1-T5	0.182	0.118*	T1-T5	0.022	0.105	T1-T5	0.110	0.084*	T1-T5	0.102	0.123
T1-T6	0.220	0.118*	T1-T6	0.096	0.105	T1-T6	0.104	0.084*	T1-T6	0.158	0.123*
T1-T7	0.094	0.118	T1-T7	0.178	0.105*	T1-T7	0.110	0.084*	T1-T7	0.164	0.123*
T1-T8	0.210	0.118*	T1-T8	0.186	0.105*	T1-T8	0.178	0.084*	T1-T8	0.181	0.141*
T1-T9	0.050	0.118*	T1-T9	0.154	0.105*	T1-T9	0.170	0.084*	T1-T9	0.224	0.123*
T1-T10	0.070	0.125	T1-T10	0.143	0.12*	T1-T10	0.142	0.084*	T1-T10	0.208	0.123*
T1-T11	0.254	0.125	T1-T11	0.132	0.105*	T1-T11	0.020	0.084	T1-T11	0.201	0.13*
T1-T12	0.260	0.118*	T1-T12	0.132	0.105*	T1-T12	0.006	0.084	T2-T3	0.014	0.123
T1-T13	0.218	0.118*	T1-T13	0.030	0.105	T1-T13	0.030	0.084	T2-T4	0.030	0.123
T1-T14	0.090	0.118	T1-T14	0.223	0.12*	T1-T14	0.172	0.084*	T2-T5	0.058	0.123
T2-T3	0.030	0.118	T2-T3	0.070	0.099	T1-T15	0.112	0.084*	T2-T6	0.114	0.123
T2-T4	0.018	0.118	T2-T4	0.126	0.099*	T2-T3	0.242	0.084*	T2-T7	0.120	0.123
T2-T5	0.104	0.118	T2-T5	0.026	0.099	T2-T4	0.334	0.084*	T2-T8	0.117	0.141
T2-T6	0.142	0.118*	T2-T6	0.100	0.099*	T2-T5	0.152	0.084*	T2-T9	0.180	0.123*
T2-T7	0.016	0.118	T2-T7	0.182	0.099*	T2-T6	0.146	0.084*	T2-T10	0.164	0.123*
T2-T8	0.132	0.118*	T2-T8	0.170	0.099*	T2-T7	0.152	0.084*	T2-T11	0.157	0.13*
T2-T9	0.028	0.125	T2-T9	0.158	0.099*	T2-T8	0.220	0.084*	T3-T4	0.016	0.123
T2-T10	0.008	0.125	T2-T10	0.147	0.115*	T2-T9	0.212	0.084*	T3-T5	0.072	0.123
T2-T11	0.176	0.118*	T2-T11	0.136	0.099*	T2-T10	0.184	0.084*	T3-T6	0.128	0.123*
T2-T12	0.182	0.118*	T2-T12	0.136	0.099*	T2-T11	0.062	0.084	T3-T7	0.134	0.123*
T2-T13	0.140	0.118*	T2-T13	0.034	0.099	T2-T12	0.036	0.084	T3-T8	0.131	0.141
T2-T14	0.012	0.118	T2-T14	0.227	0.115*	T2-T13	0.072	0.084	T3-T9	0.164	0.123*
T3-T4	0.012	0.118	T3-T4	0.056	0.099	T2-T14	0.214	0.084*	T3-T10	0.178	0.123*
T3-T5	0.074	0.118	T3-T5	0.044	0.099	T2-T15	0.154	0.084*	T3-T11	0.170	0.13*
T3-T6	0.112	0.118	T3-T6	0.030	0.099	T3-T4	0.092	0.084*	T4-T5	0.088	0.123
T3-T7	0.014	0.118	T3-T7	0.112	0.099*	T3-T5	0.090	0.084*	T4-T6	0.144	0.123*
T3-T8	0.102	0.118	T3-T8	0.100	0.099*	T3-T6	0.096	0.084*	T4-T7	0.150	0.123*
T3-T9	0.058	0.125	T3-T9	0.088	0.099	T3-T7	0.090	0.084*	T4-T8	0.147	0.141
T3-T10	0.038	0.125	T3-T10	0.077	0.115	T3-T8	0.022	0.084	T4-T9	0.210	0.123*
T3-T11	0.146	0.118*	T3-T11	0.066	0.099	T3-T9	0.030	0.084	T4-T10	0.164	0.123*
T3-T12	0.152	0.118*	T3-T12	0.066	0.099	T3-T10	0.058	0.084	T4-T11	0.187	0.13*
T3-T13	0.110	0.118	T3-T13	0.038	0.099	T3-T11	0.180	0.084*	T5-T6	0.056	0.123
T3-T14	0.018	0.118	T3-T14	0.157	0.115*	T3-T12	0.206	0.084*	T5-T7	0.082	0.123
T4-T5	0.086	0.118	T4-T5	0.100	0.099*	T3-T13	0.170	0.084*	T5-T8	0.059	0.141
T4-T6	0.124	0.118*	T4-T6	0.026	0.099	T3-T14	0.028	0.084	T5-T9	0.122	0.123
T4-T7	0.002	0.118	T4-T7	0.056	0.099	T3-T15	0.088	0.084*	T5-T10	0.106	0.123
T4-T8	0.114	0.118	T4-T8	0.044	0.099	T4-T5	0.182	0.084*	T5-T11	0.099	0.130
T4-T9	0.046	0.125	T4-T9	0.032	0.099	T4-T6	0.188	0.084*	T6-T7	0.006	0.123
T4-T10	0.026	0.125	T4-T10	0.021	0.115	T4-T7	0.182	0.084*	T6-T8	0.003	0.141
T4-T11	0.158	0.118*	T4-T11	0.010	0.099	T4-T8	0.114	0.084*	T6-T9	0.086	0.123
T4-T12	0.164	0.118*	T4-T12	0.010	0.099	T4-T9	0.122	0.084*	T6-T10	0.050	0.123
T4-T13	0.122	0.118*	T4-T13	0.092	0.099	T4-T10	0.150	0.084*	T6-T11	0.043	0.130
T4-T14	0.006	0.118	T4-T14	0.101	0.115	T4-T11	0.272	0.084*	T7-T8	0.003	0.141
T5-T6	0.038	0.118	T5-T6	0.074	0.099	T4-T12	0.298	0.084*	T7-T9	0.060	0.123
T5-T7	0.088	0.118	T5-T7	0.156	0.099*	T4-T13	0.262	0.084*	T7-T10	0.044	0.123
T5-T8	0.028	0.118	T5-T8	0.144	0.099*	T4-T14	0.120	0.084*	T7-T11	0.037	0.130
T5-T9	0.132	0.125*	T5-T9	0.132	0.099*	T4-T15	0.180	0.084*	T8-T9	0.063	0.141
T5-T10	0.112	0.125	T5-T10	0.121	0.115*	T5-T6	0.060	0.084	T8-T10	0.047	0.141
T5-T11	0.072	0.118	T5-T11	0.110	0.099*	T5-T7	0.000	0.084	T8-T11	0.039	0.148
T5-T12	0.078	0.118	T5-T12	0.110	0.099*	T5-T8	0.088	0.084	T9-T10	0.016	0.123
T5-T13	0.036	0.118	T5-T13	0.008	0.099	T5-T9	0.060	0.084	T9-T11	0.024	0.130
T5-T14	0.092	0.118	T5-T14	0.201	0.115*	T5-T10	0.032	0.084	T10-T11	0.007	0.130
T6-T7	0.126	0.118*	T6-T7	0.082	0.099	T5-T11	0.090	0.084*			
T6-T8	0.010	0.118	T6-T8	0.070	0.099	T5-T12	0.116	0.084*			
T6-T9	0.170	0.125*	T6-T9	0.058	0.099	T5-T13	0.080	0.084			
T6-T10	0.150	0.125*	T6-T10	0.047	0.115	T5-T14	0.062	0.084			
T6-T11	0.034	0.118	T6-T11	0.036	0.099	T5-T15	0.002	0.084			
T6-T12	0.040	0.118	T6-T12	0.036	0.099	T6-T7	0.006	0.084			
T6-T13	0.002	0.118	T6-T13	0.066	0.099	T6-T8	0.074	0.084			
T6-T14	0.130	0.118*	T6-T14	0.127	0.115*	T6-T9	0.066	0.084			
T7-T8	0.118	0.118	T7-T8	0.012	0.099	T6-T10	0.038	0.084			
T7-T9	0.044	0.125	T7-T9	0.024	0.099	T6-T11	0.084	0.084			
T7-T10	0.024	0.125	T7-T10	0.035	0.115	T6-T12	0.110	0.084*			
T7-T11	0.160	0.118*	T7-T11	0.046	0.099	T6-T13	0.074	0.084			
T7-T12	0.166	0.118*	T7-T12	0.046	0.099	T6-T14	0.068	0.084			
T7-T13	0.124	0.118*	T7-T13	0.148	0.099*	T6-T15	0.008	0.084			
T7-T14	0.004	0.118	T7-T14	0.045	0.115	T7-T8	0.088	0.084			
T8-T9	0.180	0.125*	T8-T9	0.012	0.099	T7-T9	0.060	0.084			
T8-T10	0.140	0.125*	T8-T10	0.023	0.115	T7-T10	0.032	0.084			
T8-T11	0.004	0.118	T8-T11	0.034	0.099	T7-T11	0.090	0.084*			
T8-T12	0.050	0.118	T8-T12	0.034	0.099	T7-T12	0.116	0.084*			
T8-T13	0.008	0.118	T8-T13	0.136	0.099*	T7-T13	0.080	0.084			
T8-T14	0.120	0.118*	T8-T14	0.057	0.115	T7-T14	0.062	0.084			
T9-T10	0.020	0.131	T9-T10	0.011	0.115	T7-T15	0.002	0.084			
T9-T11	0.204	0.125*	T9-T11	0.022	0.099	T8-T9	0.008	0.084			
T9-T12	0.210	0.125*	T9-T12	0.022	0.099	T8-T10	0.036	0.084			
T9-T13	0.188	0.125*	T9-T13	0.124	0.099*	T8-T11	0.158	0.084*			
T9-T14	0.040	0.125	T9-T14	0.069	0.115	T8-T12	0.184	0.084*			
T10-T11	0.184	0.125*	T10-T11	0.011	0.115	T8-T13	0.148	0.084*			
T10-T12	0.190	0.125*	T10-T12	0.011	0.115	T8-T14	0.006	0.084			
T10-T13	0.148	0.125*	T10-T13	0.113	0.115	T8-T15	0.066	0.084			
T10-T14	0.020	0.125	T10-T14	0.080	0.128	T9-T10	0.028	0.084			
T11-T12	0.006	0.118	T11-T12	0.000	0.099	T9-T11	0.150	0.084*			
T11-T13	0.036	0.118	T11-T13	0.102	0.099*	T9-T12	0.176	0.084*			
T11-T14	0.164	0.118*	T11-T14	0.091	0.115	T9-T13	0.140	0.084*			
T12-T13	0.042	0.118	T12-T13	0.102	0.099*	T9-T14	0.002	0.084			
T12-T14	0.170	0.118*	T12-T14	0.091	0.115	T9-T15	0.058	0.084			
T13-T14	0.128	0.118*	T13-T14	0.193	0.115*	T10-T11	0.122	0.084*			
						T10-T12	0.148	0.084*			
						T10-T13	0.112	0.084*			
						T10-T14	0.030	0.084			
						T10-T15	0.030	0.084			
						T11-T12	0.026	0.084			
						T11-T13	0.010	0.084			
						T11-T14	0.152	0.084*			
						T11-T15	0.092	0.084*			
						T12-T13	0.036	0.084			
						T12-T14	0.178	0.084*			
						T12-T15	0.118	0.084*			
						T13-T14	0.142	0.084*			
						T13-T15	0.082	0.084			
						T14-T15	0.060	0.084			

Facteur de condition K1

GARDON			BREME BORDELEJE			ABLETTE		
Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IM-Mj	Test de Scheffé
T1-T2	0,070	0,107	T1-T2	0,016	0,099	T1-T2	0,038	0,065
T1-T3	0,076	0,107	T1-T3	0,042	0,099	T1-T3	0,134	0,065*
T1-T4	0,048	0,107	T1-T4	0,068	0,099	T1-T4	0,202	0,065*
T1-T5	0,108	0,107*	T1-T5	0,036	0,099	T1-T5	0,040	0,065
T1-T6	0,166	0,107*	T1-T6	0,010	0,099	T1-T6	0,036	0,065
T1-T7	0,020	0,107	T1-T7	0,046	0,099	T1-T7	0,014	0,065
T1-T8	0,040	0,107	T1-T8	0,068	0,099	T1-T8	0,046	0,065
T1-T9	0,140	0,113*	T1-T9	0,016	0,099	T1-T9	0,044	0,065
T1-T10	0,160	0,113*	T1-T10	0,157	0,112*	T1-T10	0,056	0,065
T1-T11	0,352	0,107*	T1-T11	0,150	0,099*	T1-T11	0,036	0,065
T1-T12	0,356	0,107*	T1-T12	0,166	0,099*	T1-T12	0,024	0,065
T1-T13	0,268	0,107*	T1-T13	0,056	0,099	T1-T13	0,022	0,065
T1-T14	0,124	0,107*	T1-T14	0,220	0,112*	T1-T14	0,196	0,065*
T2-T3	0,006	0,107	T2-T3	0,058	0,093	T1-T15	0,126	0,065*
T2-T4	0,022	0,107	T2-T4	0,084	0,093	T2-T3	0,172	0,065*
T2-T5	0,038	0,107	T2-T5	0,020	0,093	T2-T4	0,240	0,065*
T2-T6	0,096	0,107	T2-T6	0,026	0,093	T2-T5	0,078	0,065*
T2-T7	0,050	0,107	T2-T7	0,062	0,093	T2-T6	0,074	0,065*
T2-T8	0,030	0,107	T2-T8	0,082	0,093	T2-T7	0,052	0,065
T2-T9	0,070	0,113	T2-T9	0,032	0,093	T2-T8	0,084	0,065*
T2-T10	0,090	0,113	T2-T10	0,173	0,107*	T2-T9	0,082	0,065*
T2-T11	0,282	0,107*	T2-T11	0,166	0,093*	T2-T10	0,094	0,065*
T2-T12	0,286	0,107*	T2-T12	0,182	0,093*	T2-T11	0,002	0,065
T2-T13	0,198	0,107*	T2-T13	0,072	0,093	T2-T12	0,014	0,065
T2-T14	0,054	0,107	T2-T14	0,236	0,107*	T2-T13	0,060	0,065
T3-T4	0,028	0,107	T3-T4	0,026	0,093	T2-T14	0,234	0,065*
T3-T5	0,032	0,107	T3-T5	0,078	0,093	T2-T15	0,164	0,065*
T3-T6	0,090	0,107	T3-T6	0,032	0,093	T3-T4	0,068	0,065*
T3-T7	0,056	0,107	T3-T7	0,004	0,093	T3-T5	0,094	0,065*
T3-T8	0,036	0,107	T3-T8	0,024	0,093	T3-T6	0,098	0,065*
T3-T9	0,064	0,113	T3-T9	0,026	0,093	T3-T7	0,120	0,065*
T3-T10	0,084	0,113	T3-T10	0,115	0,107*	T3-T8	0,088	0,065*
T3-T11	0,276	0,107*	T3-T11	0,108	0,093*	T3-T9	0,090	0,065*
T3-T12	0,280	0,107*	T3-T12	0,124	0,093*	T3-T10	0,078	0,065*
T3-T13	0,192	0,107*	T3-T13	0,014	0,093	T3-T11	0,170	0,065*
T3-T14	0,048	0,107	T3-T14	0,178	0,107*	T3-T12	0,158	0,065*
T4-T5	0,060	0,107	T4-T5	0,104	0,093*	T3-T13	0,112	0,065*
T4-T6	0,118	0,107*	T4-T6	0,058	0,093	T3-T14	0,062	0,065
T4-T7	0,028	0,107	T4-T7	0,022	0,093	T3-T15	0,008	0,065
T4-T8	0,008	0,107	T4-T8	0,002	0,093	T4-T5	0,162	0,065*
T4-T9	0,092	0,113	T4-T9	0,052	0,093	T4-T6	0,166	0,065*
T4-T10	0,112	0,113	T4-T10	0,089	0,107	T4-T7	0,188	0,065*
T4-T11	0,304	0,107*	T4-T11	0,082	0,093	T4-T8	0,156	0,065*
T4-T12	0,308	0,107*	T4-T12	0,098	0,093*	T4-T9	0,158	0,065*
T4-T13	0,220	0,107*	T4-T13	0,012	0,093	T4-T10	0,146	0,065*
T4-T14	0,076	0,107	T4-T14	0,152	0,107*	T4-T11	0,238	0,065*
T5-T6	0,058	0,107	T5-T6	0,046	0,093	T4-T12	0,226	0,065*
T5-T7	0,088	0,107	T5-T7	0,082	0,093	T4-T13	0,180	0,065*
T5-T8	0,068	0,107	T5-T8	0,102	0,093*	T4-T14	0,006	0,065
T5-T9	0,032	0,113	T5-T9	0,052	0,093	T4-T15	0,076	0,065*
T5-T10	0,052	0,113	T5-T10	0,193	0,107*	T5-T6	0,004	0,065
T5-T11	0,244	0,107*	T5-T11	0,186	0,093*	T5-T7	0,026	0,065
T5-T12	0,248	0,107*	T5-T12	0,202	0,093*	T5-T8	0,006	0,065
T5-T13	0,160	0,107*	T5-T13	0,092	0,093	T5-T9	0,004	0,065
T5-T14	0,016	0,107	T5-T14	0,256	0,107*	T5-T10	0,016	0,065
T6-T7	0,146	0,107*	T6-T7	0,036	0,093	T5-T11	0,076	0,065*
T6-T8	0,126	0,107*	T6-T8	0,056	0,093	T5-T12	0,064	0,065
T6-T9	0,025	0,113	T6-T9	0,006	0,093	T5-T13	0,018	0,065
T6-T10	0,006	0,113	T6-T10	0,147	0,107*	T5-T14	0,156	0,065*
T6-T11	0,186	0,107*	T6-T11	0,140	0,093*	T5-T15	0,086	0,065*
T6-T12	0,190	0,107*	T6-T12	0,156	0,093*	T6-T7	0,022	0,065
T6-T13	0,102	0,107	T6-T13	0,046	0,093	T6-T8	0,010	0,065
T6-T14	0,042	0,107	T6-T14	0,210	0,107*	T6-T9	0,008	0,065
T7-T8	0,020	0,107	T7-T8	0,020	0,093	T6-T10	0,020	0,065
T7-T9	0,120	0,113*	T7-T9	0,030	0,093	T6-T11	0,072	0,065*
T7-T10	0,014	0,113*	T7-T10	0,111	0,107*	T6-T12	0,060	0,065
T7-T11	0,332	0,107*	T7-T11	0,104	0,093*	T6-T13	0,014	0,065
T7-T12	0,336	0,107*	T7-T12	0,120	0,093*	T6-T14	0,180	0,065*
T7-T13	0,248	0,107*	T7-T13	0,010	0,093	T6-T15	0,090	0,065*
T7-T14	0,104	0,107	T7-T14	0,174	0,107*	T7-T8	0,032	0,065
T8-T9	0,100	0,113	T8-T9	0,050	0,093	T7-T9	0,030	0,065
T8-T10	0,120	0,113*	T8-T10	0,091	0,107	T7-T10	0,042	0,065
T8-T11	0,312	0,107*	T8-T11	0,084	0,093	T7-T11	0,050	0,065
T8-T12	0,316	0,107*	T8-T12	0,100	0,093*	T7-T12	0,038	0,065
T8-T13	0,228	0,107*	T8-T13	0,010	0,093	T7-T13	0,008	0,065
T8-T14	0,084	0,107	T8-T14	0,154	0,107*	T7-T14	0,182	0,065*
T9-T10	0,020	0,119	T9-T10	0,141	0,107*	T7-T15	0,112	0,065*
T9-T11	0,212	0,113*	T9-T11	0,134	0,093*	T8-T9	0,002	0,065
T9-T12	0,215	0,113*	T9-T12	0,150	0,093*	T8-T10	0,010	0,065
T9-T13	0,128	0,113*	T9-T13	0,040	0,093	T8-T11	0,082	0,065*
T9-T14	0,017	0,113	T9-T14	0,204	0,107*	T8-T12	0,070	0,065*
T10-T11	0,192	0,113*	T10-T11	0,007	0,107	T8-T13	0,024	0,065
T10-T12	0,195	0,113*	T10-T12	0,009	0,107	T8-T14	0,150	0,065*
T10-T13	0,108	0,113	T10-T13	0,101	0,107	T8-T15	0,080	0,065*
T10-T14	0,037	0,113	T10-T14	0,063	0,12	T9-T10	0,012	0,065
T11-T12	0,004	0,107	T11-T12	0,018	0,093	T9-T11	0,080	0,065*
T11-T13	0,064	0,107	T11-T13	0,094	0,093*	T9-T12	0,068	0,065*
T11-T14	0,228	0,107*	T11-T14	0,070	0,107	T9-T13	0,022	0,065
T12-T13	0,088	0,107	T12-T13	0,110	0,093*	T9-T14	0,152	0,065*
T12-T14	0,232	0,107*	T12-T14	0,054	0,107	T9-T15	0,082	0,065*
T13-T14	0,144	0,107*	T13-T14	0,164	0,107*	T10-T11	0,092	0,065*
						T10-T12	0,080	0,065*
						T10-T13	0,034	0,065
						T10-T14	0,140	0,065*
						T10-T15	0,070	0,065*
						T11-T12	0,012	0,065
						T11-T13	0,058	0,065
						T11-T14	0,232	0,065*
						T11-T15	0,162	0,065*
						T12-T13	0,046	0,065
						T12-T14	0,220	0,065*
						T12-T15	0,150	0,065*
						T13-T14	0,174	0,065*
						T13-T15	0,104	0,065*
						T14-T15	0,070	0,065*

Annexe 8 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée sur les données des rapports hépatosomatiques RHS et RHS_m chez les 4 espèces étudiées. * = significatif (p<0,05) et ** = hautement significatif (p<0,01)

Espèce	facteur	source	SCE	dl	CM	F	Prob
Gardon	RHS	totale	10,623	37			
		factorielle	7,198	7	1,028	9,006**	0,0001
		résiduelle	3,425	30	0,114		
	RHS _m	totale	12,632	37			
		factorielle	9,447	7	1,35	12,712**	0,0001
		résiduelle	3,185	30	0,106		
Brème bordelière	RHS	totale	10,466	50			
		factorielle	6,47	10	0,647	6,478**	0,0001
		résiduelle	3,996	40	0,1		
	RHS _m	totale	13,19	50			
		factorielle	8,217	10	0,822	6,608**	0,0001
		résiduelle	4,974	40	0,124		
Ablette	RHS	totale	7,368	54			
		factorielle	2,663	10	0,266	2,491*	0,0183
		résiduelle	4,705	44	0,107		
	RHS _m	totale	10,797	54			
		factorielle	4,645	10	0,464	3,322**	0,0028
		résiduelle	6,152	44	0,14		
Goujon	RHS	totale	18,242	46			
		factorielle	12,031	9	1,337	7,963**	0,0001
		résiduelle	6,211	37	0,168		
	RHS _m	totale	27,864	46			
		factorielle	19,99	9	2,221	10,438**	0,0001
		résiduelle	7,873	37	0,213		

Annexe 9 : Résultats de l'analyse des contrastes par la méthode de Scheffé (comparaison de moyennes 2 à 2) effectuée sur les données des rapports hépatosomatiques RHS et RHS_m chez les 4 espèces étudiées. * = différences significative à 95%

Rapport hépatosomatique RHS

GARDON			BREME BORDELEJERE			ABLETTE			GOUJON		
Comparaison	IMI-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mj	Test de Scheffé
T1-T2	0.080	0.421	T1-T2	0.270	0.451	T1-T2	0.500	0.477*	T1-T2	0.044	0.591
T1-T3	0.435	0.446	T1-T3	0.230	0.451	T1-T3	0.632	0.477*	T1-T3	0.122	0.591
T1-T4	0.570	0.446*	T1-T4	0.472	0.451*	T1-T4	0.496	0.477*	T1-T4	0.822	0.591*
T1-T5	1.194	0.421*	T1-T5	0.794	0.451*	T1-T5	0.222	0.477	T1-T5	1.024	0.591*
T1-T6	1.506	0.421*	T1-T6	0.570	0.451*	T1-T6	0.048	0.477	T1-T6	1.014	0.591*
T1-T7	0.388	0.421	T1-T7	1.541	0.521*	T1-T7	0.728	0.477*	T1-T7	0.476	0.683*
T1-T8	0.458	0.421*	T1-T8	0.448	0.451	T1-T8	0.568	0.477*	T1-T8	2.088	0.591*
T2-T3	0.356	0.446	T1-T9	0.598	0.451*	T1-T9	0.712	0.477*	T1-T9	1.140	0.591*
T2-T4	0.491	0.446*	T1-T10	1.250	0.451*	T1-T10	0.882	0.477*	T1-T10	1.066	0.627*
T2-T5	1.114	0.421*	T1-T11	0.448	0.521	T1-T11	0.694	0.477*	T2-T3	0.166	0.591
T2-T6	1.426	0.421*	T2-T3	0.040	0.451	T2-T3	0.132	0.477	T2-T4	0.866	0.591*
T2-T7	0.308	0.421	T2-T4	0.202	0.451	T2-T4	0.004	0.477	T2-T5	1.068	0.591*
T2-T8	0.378	0.421	T2-T5	0.524	0.451*	T2-T5	0.278	0.477	T2-T6	1.058	0.591*
T3-T4	0.135	0.471	T2-T6	0.300	0.451	T2-T6	0.548	0.477	T2-T7	1.520	0.683*
T3-T5	0.758	0.446*	T2-T7	1.271	0.521*	T2-T7	0.228	0.477	T2-T8	2.132	0.591*
T3-T6	1.071	0.446*	T2-T8	0.178	0.451	T2-T8	0.068	0.477	T2-T9	1.184	0.591*
T3-T7	0.048	0.446	T2-T9	0.328	0.451	T2-T9	0.212	0.477	T2-T10	1.110	0.627*
T3-T8	0.023	0.446	T2-T10	0.980	0.451*	T2-T10	0.382	0.477	T3-T4	0.700	0.591*
T4-T5	0.623	0.446*	T2-T11	0.178	0.521	T2-T11	0.194	0.477	T3-T5	0.902	0.591*
T4-T6	0.936	0.446*	T3-T4	0.242	0.451	T3-T4	0.136	0.477	T3-T6	0.892	0.591*
T4-T7	0.183	0.446	T3-T5	0.564	0.451*	T3-T5	0.410	0.477*	T3-T7	1.354	0.683*
T4-T8	0.112	0.446	T3-T6	0.340	0.451	T3-T6	0.680	0.477	T3-T8	1.966	0.591*
T5-T6	0.312	0.421	T3-T7	1.311	0.521*	T3-T7	0.096	0.477	T3-T9	1.018	0.591*
T5-T7	0.806	0.421*	T3-T8	0.218	0.451	T3-T8	0.064	0.477	T3-T10	0.944	0.627*
T5-T8	0.736	0.421*	T3-T9	0.368	0.451	T3-T9	0.080	0.477	T4-T5	0.202	0.591
T6-T7	1.118	0.421*	T3-T10	1.020	0.451*	T3-T10	0.250	0.477	T4-T6	0.192	0.591
T6-T8	1.048	0.421*	T3-T11	0.218	0.521	T3-T11	0.062	0.477	T4-T7	0.654	0.683
T7-T8	0.070	0.421	T4-T5	0.322	0.451	T4-T5	0.274	0.477	T4-T8	1.266	0.591*
			T4-T6	0.098	0.451	T4-T6	0.544	0.477*	T4-T9	0.318	0.591
			T4-T7	1.069	0.521*	T4-T7	0.232	0.477	T4-T10	0.244	0.627
			T4-T8	0.024	0.451	T4-T8	0.072	0.477	T5-T6	0.010	0.591
			T4-T9	0.126	0.451	T4-T9	0.216	0.477	T5-T7	0.452	0.683
			T4-T10	0.778	0.451*	T4-T10	0.386	0.477	T5-T8	1.064	0.591*
			T4-T11	0.024	0.521	T4-T11	0.198	0.477	T5-T9	0.116	0.591
			T5-T6	0.224	0.451	T5-T6	0.270	0.477	T5-T10	0.042	0.627
			T5-T7	0.747	0.521*	T5-T7	0.506	0.477*	T6-T7	0.462	0.683
			T5-T8	0.346	0.451	T5-T8	0.346	0.477	T6-T8	1.074	0.591*
			T5-T9	0.196	0.451	T5-T9	0.490	0.477*	T6-T9	0.126	0.591
			T5-T10	0.456	0.451*	T5-T10	0.660	0.477*	T6-T10	0.052	0.627
			T5-T11	0.346	0.521	T5-T11	0.472	0.477	T7-T8	0.612	0.683
			T6-T7	0.971	0.521*	T6-T7	0.776	0.477*	T7-T9	0.336	0.683
			T6-T8	0.122	0.451	T6-T8	0.616	0.477*	T7-T10	0.410	0.714
			T6-T9	0.028	0.451	T6-T9	0.760	0.477*	T8-T9	0.948	0.591*
			T6-T10	0.680	0.451*	T6-T10	0.930	0.477*	T8-T10	1.022	0.627*
			T6-T11	0.122	0.521	T6-T11	0.742	0.477*	T9-T10	0.074	0.627
			T7-T8	1.093	0.521*	T7-T8	0.160	0.477			
			T7-T9	0.943	0.521*	T7-T9	0.016	0.477			
			T7-T10	0.291	0.521	T7-T10	0.154	0.477			
			T7-T11	1.093	0.582*	T7-T11	0.034	0.477			
			T8-T9	0.150	0.451	T8-T9	0.144	0.477			
			T8-T10	0.802	0.451*	T8-T10	0.314	0.477			
			T8-T11	2.168 ^{A-19}	0.521	T8-T11	0.126	0.477			
			T9-T10	0.652	0.451*	T9-T10	0.170	0.477			
			T9-T11	0.150	0.521	T9-T11	0.018	0.477			
			T10-T11	0.802	0.521*	T10-T11	0.188	0.477			

Rapport hépatosomatique modifié RHS_m

GARDON			BREME BORDELIERE			ABLETTE			GOLLON		
Comparaison	IMI-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mj	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mj	Test de Scheffé
T1-T2	0,198	0,436	T1-T2	0,262	0,404	T1-T2	0,450	0,417*	T1-T2	0,040	0,525
T1-T3	0,274	0,463	T1-T3	0,266	0,404	T1-T3	0,600	0,417*	T1-T3	0,224	0,525
T1-T4	0,404	0,463	T1-T4	0,544	0,404*	T1-T4	0,554	0,417*	T1-T4	0,682	0,525*
T1-T5	1,026	0,436*	T1-T5	0,782	0,404*	T1-T5	0,306	0,417	T1-T5	0,810	0,525*
T1-T6	1,340	0,436*	T1-T6	0,640	0,404*	T1-T6	0,012	0,417	T1-T6	0,760	0,525*
T1-T7	0,274	0,436	T1-T7	1,360	0,467*	T1-T7	0,642	0,417*	T1-T7	1,123	0,606*
T1-T8	0,368	0,436	T1-T8	0,284	0,404	T1-T8	0,424	0,417*	T1-T8	1,710	0,525*
T2-T3	0,076	0,463	T1-T9	0,406	0,404*	T1-T9	0,522	0,417*	T1-T9	0,798	0,525*
T2-T4	0,206	0,463	T1-T10	1,060	0,404*	T1-T10	0,630	0,417*	T1-T10	0,755	0,557*
T2-T5	0,828	0,436*	T1-T11	0,313	0,467	T1-T11	0,462	0,417*	T2-T3	0,264	0,525
T2-T6	1,142	0,436*	T2-T3	0,040	0,404	T2-T3	0,150	0,417	T2-T4	0,722	0,525*
T2-T7	0,076	0,436	T2-T4	0,282	0,404	T2-T4	0,104	0,417	T2-T5	0,850	0,525*
T2-T8	0,170	0,436	T2-T5	0,520	0,404*	T2-T5	0,144	0,417	T2-T6	0,800	0,525*
T3-T4	0,130	0,488	T2-T6	0,378	0,404	T2-T6	0,462	0,417*	T2-T7	1,163	0,606*
T3-T5	0,751	0,463*	T2-T7	1,098	0,467*	T2-T7	0,192	0,417	T2-T8	1,750	0,525*
T3-T6	1,065	0,463*	T2-T8	0,022	0,404	T2-T8	0,026	0,417	T2-T9	0,838	0,525*
T3-T7	5,000 ^A -4	0,463	T2-T9	0,144	0,404	T2-T9	0,072	0,417	T2-T10	0,795	0,557*
T3-T8	0,094	0,463	T2-T10	0,798	0,404*	T2-T10	0,180	0,417	T3-T4	0,458	0,525
T4-T5	0,621	0,463*	T2-T11	0,051	0,467	T2-T11	0,012	0,417	T3-T5	0,586	0,525*
T4-T6	0,935	0,463*	T3-T4	0,278	0,404	T3-T4	0,046	0,417	T3-T6	0,536	0,525*
T4-T7	0,130	0,463	T3-T5	0,516	0,404*	T3-T5	0,294	0,417	T3-T7	0,899	0,606*
T4-T8	0,036	0,463	T3-T6	0,374	0,404	T3-T6	0,612	0,417*	T3-T8	1,486	0,525*
T5-T6	0,314	0,436	T3-T7	1,094	0,467*	T3-T7	0,042	0,417	T3-T9	0,574	0,525*
T5-T7	0,752	0,436*	T3-T8	0,180	0,404	T3-T8	0,176	0,417	T3-T10	0,531	0,557
T5-T8	0,658	0,436*	T3-T9	0,140	0,404	T3-T9	0,078	0,417	T4-T5	0,128	0,525
T6-T7	1,066	0,436*	T3-T10	0,794	0,404*	T3-T10	0,030	0,417	T4-T6	0,078	0,525
T6-T8	0,972	0,436*	T3-T11	0,047	0,467	T3-T11	0,138	0,417	T4-T7	0,441	0,606
T7-T8	0,094	0,436	T4-T5	0,238	0,404	T4-T5	0,248	0,417	T4-T8	1,028	0,525*
			T4-T6	0,096	0,404	T4-T6	0,566	0,417*	T4-T9	0,116	0,525
			T4-T7	0,816	0,467*	T4-T7	0,088	0,417	T4-T10	0,073	0,557
			T4-T8	0,260	0,404	T4-T8	0,130	0,417	T5-T6	0,050	0,525
			T4-T9	0,138	0,404	T4-T9	0,032	0,417	T5-T7	0,313	0,606
			T4-T10	0,516	0,404*	T4-T10	0,076	0,417	T5-T8	0,900	0,525*
			T4-T11	0,231	0,467	T4-T11	0,092	0,417	T5-T9	0,012	0,525
			T5-T6	0,142	0,404	T5-T6	0,318	0,417	T5-T10	0,055	0,557
			T5-T7	0,578	0,467*	T5-T7	0,336	0,417	T6-T7	0,363	0,606
			T5-T8	0,498	0,404*	T5-T8	0,118	0,417	T6-T8	0,950	0,525*
			T5-T9	0,376	0,404	T5-T9	0,216	0,417	T6-T9	0,038	0,525
			T5-T10	0,278	0,404	T5-T10	0,324	0,417	T6-T10	0,005	0,557
			T5-T11	0,469	0,467*	T5-T11	0,156	0,417	T7-T8	0,587	0,606
			T6-T7	0,720	0,467*	T6-T7	0,654	0,417*	T7-T9	0,325	0,606
			T6-T8	0,356	0,404	T6-T8	0,436	0,417*	T7-T10	0,368	0,634
			T6-T9	0,234	0,404	T6-T9	0,534	0,417*	T8-T9	0,912	0,525*
			T6-T10	0,420	0,404*	T6-T10	0,642	0,417*	T8-T10	0,955	0,557*
			T6-T11	0,327	0,467	T6-T11	0,474	0,417*	T9-T10	0,043	0,557
			T7-T8	1,076	0,467*	T7-T8	0,218	0,417			
			T7-T9	0,954	0,467*	T7-T9	0,120	0,417			
			T7-T10	0,300	0,467	T7-T10	0,012	0,417			
			T7-T11	1,047	0,522*	T7-T11	0,180	0,417			
			T8-T9	0,122	0,404	T8-T9	0,098	0,417			
			T8-T10	0,776	0,404*	T8-T10	0,206	0,417			
			T8-T11	0,029	0,467	T8-T11	0,038	0,417			
			T9-T10	0,654	0,404*	T9-T10	0,108	0,417			
			T9-T11	0,093	0,467	T9-T11	0,060	0,417			
			T10-T11	0,747	0,467*	T10-T11	0,168	0,417			

Annexe 10 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée sur les données des concentrations en phosphore protéique plasmatique (PPP) et en 17 β -oestradiol (E2) chez les 4 espèces étudiées. * = significatif (p<0,05) et ** = hautement significatif (p<0,01)

Espèce	facteur	source	SCE	dl	CM	F	Prob
Gardon	PPP	totale	72,004	63			
		factorielle	37,762	13	2,905	4,241**	0,0001
		résiduelle	34,242	50	0,685		
	E2	totale	5,494	61			
		factorielle	3,011	12	0,251	4,949**	0,0001
		résiduelle	2,484	49	0,051		
Brème bordelière	PPP	totale	305,192	60			
		factorielle	174,893	13	13,453	4,853**	0,0001
		résiduelle	130,299	47	2,772		
	E2	totale	2,864	61			
		factorielle	1,835	12	0,153	7,288**	0,0001
		résiduelle	1,028	49	0,021		
Ablette	PPP	totale	334,76	71			
		factorielle	198,519	14	14,18	5,933**	0,0001
		résiduelle	136,241	57	2,39		
	E2	totale	3,57	71			
		factorielle	2,466	14	0,176	9,093**	0,0001
		résiduelle	1,104	57	0,019		
Goujon	PPP	totale	305,231	44			
		factorielle	220,754	10	22,075	8,885**	0,0001
		résiduelle	84,477	34	2,485		
	E2	totale	24,471	41			
		factorielle	13,457	9	1,495	4,344**	0,0009
		résiduelle	11,014	32	0,344		

Annexe 11 : Résultats de l'analyse des contrastes par la méthode de Scheffé (comparaison de moyennes 2 à 2) effectuée sur les données des concentrations en 17 β -oestradiol (E2) chez les 4 espèces étudiées. * = différences significative à 95%

GARDON			BREME BORDELEISE			ARLETTE			GOLLON		
Comparaison	IM-M	Test de Scheffé	Comparaison	IM-M	Test de Scheffé	Comparaison	IM-M	Test de Scheffé	Comparaison	IM-M	Test de Scheffé
T1-T2	0,060	0,286	T1-T2	0,039	0,195	T1-T2	0,050	0,197	T1-T2	1,244	0,756*
T1-T3	0,584	0,304*	T1-T3	0,199	0,195*	T1-T3	0,520	0,187*	T1-T3	1,184	0,756*
T1-T4	0,376	0,286*	T1-T4	0,315	0,195*	T1-T4	0,530	0,187*	T1-T4	1,453	0,802*
T1-T5	0,440	0,286*	T1-T5	0,195	0,195	T1-T5	0,286	0,187*	T1-T5	0,758	0,756*
T1-T6	0,470	0,286*	T1-T6	0,333	0,195*	T1-T6	0,300	0,187*	T1-T6	1,602	0,802*
T1-T7	0,350	0,286*	T1-T7	0,101	0,195	T1-T7	0,138	0,187	T1-T7	1,657	0,873*
T1-T8	0,294	0,286*	T1-T8	0,247	0,195*	T1-T8	0,513	0,187*	T1-T8	1,925	1*
T1-T9	0,051	0,304	T1-T9	0,313	0,195*	T1-T9	0,225	0,187*	T1-T9	1,722	0,802*
T1-T10	0,048	0,304	T1-T10	0,118	0,222	T1-T10	0,403	0,187*	T1-T10	1,788	0,756*
T1-T11	0,110	0,286	T1-T11	0,141	0,195	T1-T11	0,134	0,187	T2-T3	0,080	0,756
T1-T12	0,010	0,286	T1-T12	0,119	0,195	T1-T12	0,102	0,187	T2-T4	0,209	0,802
T1-T13	0,128	0,286	T1-T13	0,087	0,195	T1-T13	0,074	0,187	T2-T5	0,486	0,756
T2-T3	0,504	0,304*	T2-T3	0,180	0,184	T1-T14	0,028	0,197	T2-T6	0,359	0,802
T2-T4	0,298	0,286*	T2-T4	0,278	0,184*	T1-T15	0,079	0,187	T2-T7	0,413	0,873
T2-T5	0,360	0,286*	T2-T5	0,158	0,184	T2-T3	0,471	0,187*	T2-T8	0,681	1,000
T2-T6	0,390	0,286*	T2-T6	0,294	0,184*	T2-T4	0,480	0,187*	T2-T9	0,479	0,802
T2-T7	0,270	0,286	T2-T7	0,082	0,184	T2-T5	0,216	0,187*	T2-T10	0,542	0,756
T2-T8	0,214	0,286	T2-T8	0,208	0,184*	T2-T6	0,251	0,187*	T3-T4	0,289	0,802
T2-T9	0,131	0,304	T2-T9	0,274	0,184*	T2-T7	0,086	0,187	T3-T5	0,406	0,756
T2-T10	0,128	0,304	T2-T10	0,157	0,213	T2-T8	0,463	0,187*	T3-T6	0,438	0,802
T2-T11	0,190	0,286	T2-T11	0,180	0,184	T2-T9	0,175	0,187	T3-T7	0,493	0,873
T2-T12	0,070	0,286	T2-T12	0,158	0,184	T2-T10	0,353	0,187*	T3-T8	0,781	1,000
T2-T13	0,048	0,286	T2-T13	0,126	0,184	T2-T11	0,084	0,187	T3-T9	0,559	0,802
T3-T4	0,208	0,304	T3-T4	0,116	0,184	T2-T12	0,052	0,187	T3-T10	0,622	0,756
T3-T5	0,144	0,304	T3-T5	0,004	0,184	T2-T13	0,024	0,187	T4-T5	0,695	0,802
T3-T6	0,114	0,304	T3-T6	0,134	0,184	T2-T14	0,078	0,197	T4-T6	0,150	0,845
T3-T7	0,234	0,304	T3-T7	0,098	0,184	T2-T15	0,029	0,187	T4-T7	0,204	0,913
T3-T8	0,290	0,304	T3-T8	0,048	0,184	T3-T4	0,010	0,176	T4-T8	0,472	1,035
T3-T9	0,835	0,32*	T3-T9	0,114	0,184	T3-T5	0,254	0,176*	T4-T9	0,270	0,845
T3-T10	0,833	0,32*	T3-T10	0,317	0,213*	T3-T6	0,220	0,176*	T4-T10	0,333	0,802
T3-T11	0,694	0,304*	T3-T11	0,340	0,184*	T3-T7	0,384	0,176*	T5-T6	0,845	0,802*
T3-T12	0,574	0,304*	T3-T12	0,318	0,184*	T3-T8	0,008	0,178	T5-T7	0,899	0,873*
T3-T13	0,456	0,304*	T3-T13	0,286	0,184*	T3-T9	0,296	0,176*	T5-T8	1,187	1*
T4-T5	0,084	0,286	T4-T5	0,120	0,184	T3-T10	0,118	0,178	T5-T9	0,965	0,802*
T4-T6	0,094	0,286	T4-T6	0,018	0,184	T3-T11	0,386	0,176*	T5-T10	1,028	0,756*
T4-T7	0,028	0,286	T4-T7	0,214	0,184*	T3-T12	0,418	0,176*	T6-T7	0,054	0,913
T4-T8	0,082	0,286	T4-T8	0,068	0,184	T3-T13	0,446	0,176*	T6-T8	0,323	1,035
T4-T9	0,427	0,304*	T4-T9	0,002	0,184	T3-T14	0,548	0,187*	T6-T9	0,120	0,845
T4-T10	0,425	0,304*	T4-T10	0,433	0,213*	T3-T15	0,442	0,176*	T6-T10	0,184	0,802
T4-T11	0,486	0,286*	T4-T11	0,458	0,184*	T4-T5	0,264	0,176*	T7-T8	0,288	1,091
T4-T12	0,366	0,286*	T4-T12	0,434	0,184*	T4-T6	0,230	0,176*	T7-T9	0,086	0,913
T4-T13	0,248	0,286	T4-T13	0,402	0,184*	T4-T7	0,394	0,176*	T7-T10	0,129	0,873
T5-T6	0,030	0,286	T5-T6	0,138	0,184	T4-T8	0,018	0,178	T8-T9	0,203	1,035
T5-T7	0,090	0,286	T5-T7	0,094	0,184	T4-T9	0,306	0,176*	T8-T10	0,139	1,000
T5-T8	0,148	0,286	T5-T8	0,052	0,184	T4-T10	0,128	0,178	T9-T10	0,084	0,802
T5-T9	0,491	0,304*	T5-T9	0,118	0,184	T4-T11	0,396	0,176*			
T5-T10	0,489	0,304*	T5-T10	0,313	0,213*	T4-T12	0,428	0,176*			
T5-T11	0,550	0,286*	T5-T11	0,336	0,184*	T4-T13	0,458	0,176*			
T5-T12	0,430	0,286*	T5-T12	0,314	0,184*	T4-T14	0,558	0,187*			
T5-T13	0,312	0,286*	T5-T13	0,282	0,184*	T4-T15	0,452	0,176*			
T6-T7	0,120	0,286	T6-T7	0,232	0,184*	T5-T6	0,054	0,176			
T6-T8	0,178	0,286	T6-T8	0,086	0,184	T5-T7	0,130	0,176			
T6-T9	0,521	0,304*	T6-T9	0,020	0,184	T5-T8	0,246	0,176*			
T6-T10	0,519	0,304*	T6-T10	0,451	0,213*	T5-T9	0,042	0,176			
T6-T11	0,580	0,286*	T6-T11	0,474	0,184*	T5-T10	0,136	0,176			
T6-T12	0,480	0,286*	T6-T12	0,452	0,184*	T5-T11	0,132	0,176			
T6-T13	0,342	0,286*	T6-T13	0,420	0,184*	T5-T12	0,164	0,176			
T7-T8	0,058	0,286	T7-T8	0,148	0,184	T5-T13	0,192	0,176*			
T7-T9	0,401	0,304*	T7-T9	0,212	0,184*	T5-T14	0,294	0,187*			
T7-T10	0,399	0,304*	T7-T10	0,219	0,213*	T5-T15	0,188	0,176*			
T7-T11	0,460	0,286*	T7-T11	0,242	0,184*	T6-T7	0,164	0,178			
T7-T12	0,340	0,286*	T7-T12	0,220	0,184*	T6-T8	0,212	0,176*			
T7-T13	0,222	0,286	T7-T13	0,188	0,184*	T6-T9	0,076	0,176			
T8-T9	0,345	0,304*	T8-T9	0,066	0,184	T6-T10	0,102	0,176			
T8-T10	0,342	0,304*	T8-T10	0,365	0,213*	T6-T11	0,168	0,176			
T8-T11	0,404	0,286*	T8-T11	0,388	0,184*	T6-T12	0,198	0,176*			
T8-T12	0,284	0,286	T8-T12	0,366	0,184*	T6-T13	0,226	0,176*			
T8-T13	0,168	0,286	T8-T13	0,334	0,184*	T6-T14	0,328	0,187*			
T9-T10	0,003	0,320	T9-T10	0,431	0,213*	T6-T15	0,222	0,176*			
T9-T11	0,059	0,304	T9-T11	0,454	0,184*	T7-T8	0,378	0,176*			
T9-T12	0,061	0,304	T9-T12	0,432	0,184*	T7-T9	0,088	0,176			
T9-T13	0,179	0,304	T9-T13	0,400	0,184*	T7-T10	0,286	0,176*			
T10-T11	0,082	0,304	T10-T11	0,023	0,213	T7-T11	0,002	0,176			
T10-T12	0,058	0,304	T10-T12	0,001	0,213	T7-T12	0,034	0,176			
T10-T13	0,177	0,304	T10-T13	0,031	0,213	T7-T13	0,062	0,176			
T11-T12	0,120	0,286	T11-T12	0,022	0,184	T7-T14	0,164	0,187			
T11-T13	0,238	0,286	T11-T13	0,054	0,184	T7-T15	0,058	0,176			
T12-T13	0,118	0,286	T12-T13	0,032	0,184	T8-T9	0,288	0,176*			
						T8-T10	0,110	0,176			
						T8-T11	0,378	0,176*			
						T8-T12	0,410	0,176*			
						T8-T13	0,438	0,176*			
						T8-T14	0,540	0,187*			
						T8-T15	0,434	0,176*			
						T9-T10	0,178	0,176*			
						T9-T11	0,090	0,176			
						T9-T12	0,122	0,176			
						T9-T13	0,150	0,178			
						T9-T14	0,252	0,187*			
						T9-T15	0,146	0,178			
						T10-T11	0,268	0,176*			
						T10-T12	0,300	0,176*			
						T10-T13	0,328	0,176*			
						T10-T14	0,430	0,187*			
						T10-T15	0,324	0,176*			
						T11-T12	0,032	0,176			
						T11-T13	0,060	0,176			
						T11-T14	0,162	0,187			
						T11-T15	0,058	0,176			
						T12-T13	0,028	0,176			
						T12-T14	0,130	0,187			
						T12-T15	0,024	0,178			
						T13-T14	0,102	0,187			
						T13-T15	0,004	0,176			
						T14-T15	0,108	0,187			

Annexe 12 : Résultats de l'analyse des contrastes par la méthode de Scheffé (comparaison de moyennes 2 à 2) effectuée sur les données des concentrations en phosphore protéique plasmatique (PPP) chez les 4 espèces étudiées. * = différences significative à 95%

GARDON			BREME BORDELEUSE			ABLETTE			GOUJON		
Comparaison	IM-MJ	Test de Scheffé	Comparaison	IM-MJ	Test de Scheffé	Comparaison	IM-MJ	Test de Scheffé	Comparaison	IM-MJ	Test de Scheffé
T1-T2	0,992	1,115	T1-T2	0,101	2,803	T1-T2	0,017	2,261	T1-T2	1,614	2,149
T1-T3	0,028	1,115	T1-T3	2,873	2,803*	T1-T3	2,968	1,958*	T1-T3	5,526	2,026*
T1-T4	0,842	1,051	T1-T4	2,045	2,803	T1-T4	2,698	1,958*	T1-T4	1,987	2,340
T1-T5	0,224	1,051	T1-T5	4,133	2,803*	T1-T5	5,542	2,077*	T1-T5	3,832	2,149*
T1-T6	0,074	1,051	T1-T6	4,061	2,803*	T1-T6	3,408	1,958*	T1-T6	3,124	2,026*
T1-T7	0,425	1,115	T1-T7	2,471	2,803	T1-T7	3,568	1,958*	T1-T7	4,251	2,34*
T1-T8	0,824	1,051	T1-T8	1,837	2,803	T1-T8	4,006	1,958*	T1-T8	0,084	2,340
T1-T9	0,830	1,115	T1-T9	1,085	2,803	T1-T9	4,438	1,958*	T1-T9	1,046	2,026
T1-T10	1,527	1,115*	T1-T10	0,005	3,35	T1-T10	3,576	1,958*	T1-T10	0,976	2,149
T1-T11	1,570	1,115*	T1-T11	0,368	2,901	T1-T11	1,952	1,958	T1-T11	0,051	2,149
T1-T12	1,576	1,051*	T1-T12	0,715	2,803	T1-T12	2,650	1,958*	T2-T3	3,912	2,149*
T1-T13	0,024	1,051	T1-T13	0,491	2,803	T1-T13	3,300	1,958*	T2-T4	0,373	2,447
T1-T14	1,254	1,051*	T1-T14	0,402	2,803	T1-T14	0,044	1,958	T2-T5	2,218	2,265
T2-T3	1,020	1,175	T2-T3	2,874	3,058	T1-T15	0,044	1,958	T2-T6	1,510	2,149
T2-T4	0,350	1,115	T2-T4	2,146	2,119*	T2-T3	2,951	2,261*	T2-T7	2,637	2,447*
T2-T5	0,768	1,115	T2-T5	4,234	2,119*	T2-T4	2,681	2,261*	T2-T8	1,530	2,447
T2-T6	1,066	1,115	T2-T6	4,182	2,119*	T2-T5	5,526	2,365*	T2-T9	2,960	2,149*
T2-T7	0,567	1,175	T2-T7	2,572	2,119*	T2-T6	3,391	2,261*	T2-T10	2,590	2,265*
T2-T8	0,188	1,115	T2-T8	1,938	2,119*	T2-T7	3,551	2,261*	T2-T11	1,563	2,265
T2-T9	0,182	1,175	T2-T9	1,186	2,119	T2-T8	3,989	2,261*	T3-T4	3,539	2,34*
T2-T10	0,535	1,175	T2-T10	0,106	2,119	T2-T9	4,421	2,261*	T3-T5	1,694	2,149
T2-T11	0,578	1,175	T2-T11	0,267	2,803	T2-T10	3,559	2,261*	T3-T6	2,402	2,026*
T2-T12	0,584	1,115	T2-T12	0,614	2,247	T2-T11	1,935	2,261	T3-T7	1,275	2,340
T2-T13	1,016	1,115	T2-T13	0,390	2,119	T2-T12	2,633	2,261*	T3-T8	5,442	2,34*
T2-T14	2,246	1,115*	T2-T14	0,301	2,119	T2-T13	3,283	2,261*	T3-T9	6,572	2,026*
T3-T4	0,670	1,115	T3-T4	0,828	2,446	T2-T14	0,027	2,261	T3-T10	6,502	2,149*
T3-T5	0,252	1,115	T3-T5	1,260	2,119	T2-T15	0,027	2,261	T3-T11	5,474	2,149*
T3-T6	0,046	1,115	T3-T6	1,208	2,119	T3-T4	0,270	1,958	T4-T5	1,844	2,447
T3-T7	0,453	1,175	T3-T7	0,402	2,119	T3-T5	2,574	2,077*	T4-T6	1,137	2,840
T3-T8	0,852	1,115	T3-T8	1,036	2,119	T3-T6	0,440	1,958	T4-T7	2,263	2,616
T3-T9	0,858	1,175	T3-T9	1,788	2,119	T3-T7	0,600	1,958	T4-T8	1,903	2,616
T3-T10	1,555	1,175*	T3-T10	2,868	2,119	T3-T8	1,038	1,958	T4-T9	3,033	2,34*
T3-T11	1,598	1,175*	T3-T11	3,240	2,803*	T3-T9	1,470	1,958	T4-T10	2,963	2,447*
T3-T12	1,604	1,115*	T3-T12	3,588	2,247*	T3-T10	0,608	1,958	T4-T11	1,936	2,447
T3-T13	0,004	1,115	T3-T13	3,364	2,119*	T3-T11	0,016	1,928	T5-T6	0,708	2,149
T3-T14	1,226	1,115*	T3-T14	3,275	2,119*	T3-T12	0,318	1,958	T5-T7	0,419	2,447
T4-T5	0,418	1,051	T4-T5	2,088	2,446*	T3-T13	0,332	1,928	T5-T8	3,748	2,447*
T4-T6	0,716	1,051	T4-T6	2,036	2,119	T3-T14	2,924	1,958*	T5-T9	4,878	2,149*
T4-T7	0,217	1,115	T4-T7	0,426	2,119	T3-T15	2,924	1,958*	T5-T10	4,808	2,265*
T4-T8	0,182	1,051	T4-T8	0,208	2,119	T4-T5	2,844	2,077*	T5-T11	3,780	2,265*
T4-T9	0,188	1,115	T4-T9	0,960	2,119	T4-T6	0,710	1,958	T6-T7	1,127	2,340
T4-T10	0,885	1,115	T4-T10	2,040	2,119	T4-T7	0,870	1,958	T6-T8	3,040	2,34*
T4-T11	0,928	1,115	T4-T11	2,412	2,803	T4-T8	1,308	1,958	T6-T9	4,170	2,026*
T4-T12	0,934	1,051	T4-T12	2,760	2,247*	T4-T9	1,740	1,958	T6-T10	4,100	2,149*
T4-T13	0,666	1,051	T4-T13	2,536	2,119*	T4-T10	0,878	1,958	T6-T11	3,072	2,149*
T4-T14	1,896	1,051*	T4-T14	2,447	2,119*	T4-T11	0,746	1,958	T7-T8	4,167	2,816*
T5-T6	0,298	1,051	T5-T6	0,052	2,446*	T4-T12	0,048	1,958	T7-T9	5,297	2,34*
T5-T7	0,200	1,115	T5-T7	1,662	2,119	T4-T13	0,602	1,958	T7-T10	5,227	2,447*
T5-T8	0,600	1,051	T5-T8	2,296	2,119	T4-T14	2,654	1,958*	T7-T11	4,199	2,447*
T5-T9	0,605	1,115	T5-T9	3,048	2,119*	T4-T15	2,654	1,958*	T8-T9	1,130	2,340
T5-T10	1,303	1,115*	T5-T10	4,128	2,119*	T5-T6	2,134	2,077*	T8-T10	1,060	2,447
T5-T11	1,345	1,115*	T5-T11	4,501	2,803*	T5-T7	1,974	2,077	T8-T11	0,033	2,447
T5-T12	1,352	1,051*	T5-T12	4,848	2,247*	T5-T8	1,536	2,077	T9-T10	0,070	2,149
T5-T13	0,248	1,051	T5-T13	4,624	2,119*	T5-T9	1,105	2,077	T9-T11	1,097	2,149
T5-T14	1,478	1,051*	T5-T14	4,535	2,119*	T5-T10	1,966	2,077	T10-T11	1,027	2,265
T6-T7	0,498	1,115	T6-T7	1,610	2,446*	T5-T11	3,590	2,077*			
T6-T8	0,898	1,051	T6-T8	2,244	2,119	T5-T12	2,892	2,077*			
T6-T9	0,903	1,115	T6-T9	2,966	2,119*	T5-T13	2,242	2,077*			
T6-T10	1,601	1,115*	T6-T10	4,076	2,119*	T5-T14	5,496	2,077*			
T6-T11	1,643	1,115*	T6-T11	4,449	2,803*	T5-T15	5,498	2,077*			
T6-T12	1,650	1,051*	T6-T12	4,796	2,247*	T6-T7	0,160	1,958			
T6-T13	0,050	1,051	T6-T13	4,572	2,119*	T6-T8	0,598	1,958			
T6-T14	1,180	1,051*	T6-T14	4,483	2,119*	T6-T9	1,030	1,958			
T7-T8	0,399	1,115	T7-T8	0,634	2,446*	T6-T10	0,188	1,958			
T7-T9	0,405	1,175	T7-T9	1,366	2,119	T6-T11	1,456	1,958			
T7-T10	1,102	1,175	T7-T10	2,466	2,119	T6-T12	0,758	1,958			
T7-T11	1,145	1,175	T7-T11	2,838	2,803	T6-T13	0,108	1,958			
T7-T12	1,152	1,115*	T7-T12	3,186	2,247*	T6-T14	3,364	1,958*			
T7-T13	0,449	1,115	T7-T13	2,962	2,119*	T6-T15	3,364	1,958*			
T7-T14	1,679	1,115*	T7-T14	2,873	2,119*	T7-T8	0,438	1,958			
T8-T9	0,006	1,115	T8-T9	0,752	2,446*	T7-T9	0,870	1,958			
T8-T10	0,703	1,115	T8-T10	1,832	2,119	T7-T10	0,008	1,958			
T8-T11	0,746	1,115	T8-T11	2,205	2,803	T7-T11	1,616	1,958			
T8-T12	0,752	1,051	T8-T12	2,552	2,247	T7-T12	0,918	1,958			
T8-T13	0,848	1,051	T8-T13	2,328	2,119*	T7-T13	0,268	1,958			
T8-T14	2,078	1,051*	T8-T14	2,239	2,119*	T7-T14	3,524	1,958*			
T9-T10	0,697	1,175	T9-T10	1,080	2,446	T7-T15	3,524	1,958*			
T9-T11	0,740	1,175	T9-T11	1,452	2,803	T8-T9	0,432	1,958			
T9-T12	0,746	1,115	T9-T12	1,800	2,247	T8-T10	0,430	1,958			
T9-T13	0,854	1,115	T9-T13	1,576	2,119	T8-T11	2,054	1,958*			
T9-T14	2,084	1,115*	T9-T14	1,487	2,119	T8-T12	1,356	1,958			
T10-T11	0,043	1,115	T10-T11	0,372	2,446	T8-T13	0,706	1,958			
T10-T12	0,049	1,115	T10-T12	0,720	2,901	T8-T14	3,962	1,958*			
T10-T13	1,551	1,115*	T10-T13	0,496	2,803	T8-T15	3,962	1,958*			
T10-T14	2,781	1,115*	T10-T14	0,407	2,803	T9-T10	0,862	1,958			
T11-T12	0,007	1,115	T11-T12	0,347	3,058	T9-T11	2,486	1,958*			
T11-T13	1,593	1,115*	T11-T13	0,124	2,247	T9-T12	1,788	1,958			
T11-T14	2,824	1,115*	T11-T14	0,034	2,247	T9-T13	1,138	1,958			
T12-T13	1,600	1,051*	T12-T13	0,224	2,559	T9-T14	4,394	1,958*			
T12-T14	2,830	1,051*	T12-T14	0,313	2,119	T9-T15	4,394	1,958*			
T13-T14	1,230	1,051*	T13-T14	0,089	2,446	T10-T11	1,624	1,958			
						T10-T12	0,926	1,958			
						T10-T13	0,276	1,958			
						T10-T14	3,532	1,958*			
						T10-T15	3,532	1,958*			
						T11-T12	0,698	1,958			
						T11-T13	1,348	1,958			
						T11-T14	1,908	1,958			
						T11-T15	1,908	1,958			
						T12-T13	0,650	1,958			
						T12-T14	2,606	1,958*			
						T12-T15	2,606	1,958*			
						T13-T14	3,256	1,958*			
						T13-T15	3,256	1,958*			
						T14-T15	0,000	1,958			

Annexe 13 : Résultats de l'analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA 1) effectuée sur les données des concentrations en phosphore protéique plasmatique (PPP) et en 17 β -oestradiol (E2) en fonction du stade de maturité de l'ovaire chez les 4 espèces étudiées. * = significatif (p<0,05) et ** = hautement significatif (p<0,01)

Espèce	facteur	source	SCE	dl	CM	F	Prob
Gardon	PPP	totale	66,8	58			
		factorielle	21,531	4	5,383	6,421**	0,0003
		résiduelle	45,269	54	0,838		
	E2	totale	3,87	56			
		factorielle	1,408	4	0,352	7,432**	0,0001
		résiduelle	2,462	52	0,047		
Brème bordelière	PPP	totale	4,979	57			
		factorielle	3,54	5	0,708	25,576**	0,0001
		résiduelle	1,439	52	0,028		
	E2	totale	138,936	57			
		factorielle	35,15	5	7,03	3,522**	0,0081
		résiduelle	103,787	52	1,996		
Ablette	PPP	totale	330,044	74			
		factorielle	157,198	5	30,84	12,101**	0,0001
		résiduelle	175,846	69	2,548		
	E2	totale	148,846	72			
		factorielle	37,824	5	7,565	4,565**	0,0012
		résiduelle	111,022	67	1,657		
Goujon	PPP	totale	407,46	44			
		factorielle	185,983	5	37,197	6,55**	0,0002
		résiduelle	221,476	39	5,679		
	E2	totale	24,405	41			
		factorielle	5,901	5	1,18	2,296	0,0656
		résiduelle	18,504	36	0,514		

Annexe 14 : Résultats de l'analyse des contrastes par la méthode de Scheffé (comparaison de moyennes 2 à 2) effectuée sur les données des concentrations en 17 β -oestradiol (E2) en fonction du stade de maturité de l'ovaire chez les 4 espèces étudiées. * = différences significative à 95%

Phosphore protéique plasmatique

GARDON			BREME BORDELIERE			ABLETTE			GOUJON		
Comparaison	IMI-Mjl	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mjl	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mjl	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mjl	Test de Scheffé
S1-S2	1,264	1,103*	S1-S2	0,090	0,17	S1-S2	0,090	2,448	S1-S2	0,458	3,173
S1-S3	1,544	0,69*	S1-S3	0,594	0,165*	S1-S3	0,752	2,601	S1-S3	3,650	3,067*
S1-S4	0,584	0,925	S1-S4	0,551	0,224*	S1-S4	3,689	2,352*	S1-S4	2,862	3,409
S1-S5	0,490	0,968	S1-S5	0,233	0,195*	S1-S5	2,903	2,319*	S1-S5	5,951	3,214*
S2-S3	0,279	0,972	S1-S6	0,056	0,244	S1-S6	6,120	3,901*	S1-S6	1,123	3,936
S2-S4	0,680	1,151	S2-S3	0,504	0,108*	S2-S3	0,842	1,616	S2-S3	3,192	1,996*
S2-S5	0,774	1,185	S2-S4	0,461	0,186*	S2-S4	3,779	1,176*	S2-S4	2,403	2,489
S3-S4	0,960	0,764*	S2-S5	0,143	0,15	S2-S5	2,993	1,109*	S2-S5	5,493	2,215*
S3-S5	1,054	0,815*	S2-S6	0,034	0,209	S2-S6	6,210	3,327*	S2-S6	0,665	3,173
S4-S5	0,094	1,021	S3-S4	0,043	0,181	S3-S4	2,937	1,467*	S3-S4	0,789	2,352
			S3-S5	0,361	0,145*	S3-S5	2,152	1,414*	S3-S5	2,301	2,06*
			S3-S6	0,538	0,205*	S3-S6	5,368	3,44*	S3-S6	2,527	3,067
			S4-S5	0,318	0,209*	S4-S5	0,786	0,877	S4-S5	3,089	2,541*
			S4-S6	0,495	0,55*	S4-S6	2,431	3,527	S4-S6	1,738	3,409
			S5-S6	0,177	0,23	S5-S6	3,217	3,233	S5-S6	4,828	3,214*

17β-oestradiol

GARDON			BREME BORDELIERE			ABLETTE		
Comparaison	IMI-Mjl	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mjl	Test de Scheffé	Comparaison	IMI-Mjl	Test de Scheffé
S1-S2	0,225	0,258	S1-S2	0,413	2,103	S1-S2	0,183	1,99
S1-S3	0,381	0,159*	S1-S3	1,995	2,098	S1-S3	2,266	2,15*
S1-S4	0,327	0,215*	S1-S4	1,668	2,455	S1-S4	2,007	1,894*
S1-S5	0,053	0,226	S1-S5	1,226	2,273	S1-S5	0,942	1,873
S2-S3	0,156	0,232	S1-S6	0,330	2,455	S1-S6	0,160	3,147
S2-S4	0,102	0,274	S2-S3	1,581	0,886*	S2-S3	2,083	1,407*
S2-S5	0,172	0,282	S2-S4	1,524	1,553	S2-S4	1,824	0,973*
S3-S4	0,054	0,183	S2-S5	0,812	1,245	S2-S5	0,759	0,931
S3-S5	0,328	0,195*	S2-S6	0,446	1,553	S2-S6	0,343	2,695
S4-S5	0,274	0,243*	S3-S4	0,327	1,547	S3-S4	0,259	1,268
			S3-S5	0,769	1,237	S3-S5	1,324	1,236*
			S3-S6	2,027	1,547*	S3-S6	2,426	2,815
			S4-S5	0,442	1,777	S4-S5	1,065	0,702*
			S4-S6	1,7	2,005	S4-S6	2,167	2,625
			S5-S6	1,258	1,777	S5-S6	1,102	2,609